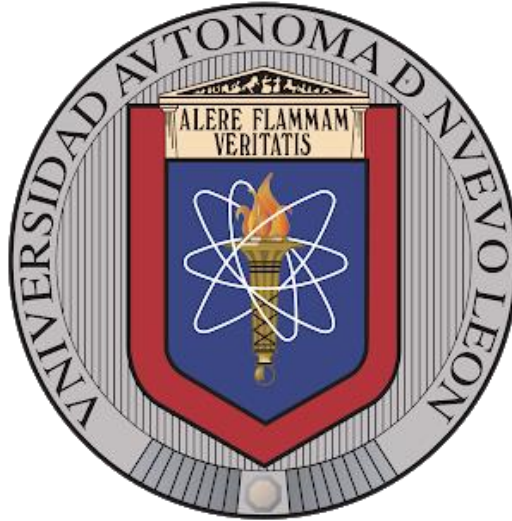


Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Ingeniería Civil



“Desarrollo de Materiales Cementantes Bio-receptivos
en la Colonización de Microalgas”

Por

Arq. Gabriela Domínguez Huerta

Como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRA EN CIENCIAS con Orientación en Materiales de
Construcción

Junio 2020

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Ingeniería Civil



“Desarrollo de Materiales Cementantes Bio-receptivos en la Colonización de Microalgas”

Por

Arq. Gabriela Domínguez Huerta

Como requisito parcial para obtener el Grado de

MAESTRA EN CIENCIAS con Orientación en Materiales de
Construcción

Director de Tesis

Dr. Antonio Alberto Zaldívar Cadena

Junio 2020



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FACULTAD DE INGENIERÍA CIVIL
INSTITUTO DE INGENIERÍA CIVIL

DR. GERARDO FAJARDO SAN MIGUEL
SUBDIRECTOR DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
PRESENTE.-

Estimado Dr. Fajardo:

Por medio de la presente hago de su conocimiento que finalicé la revisión de (Tesis) con título **“Desarrollo de Materiales Cementantes Bio-receptivos en la Colonización de Microalgas”** que presenta la **Arq. Gabriela Domínguez Huerta** como requisito parcial para obtener el grado de Maestra en Ciencias con Orientación en Materiales de Construcción, me permito informar a usted que después de haber leído y evaluado la calidad del documento, dictamino que el mismo es **APROBADO** y la fecha del examen de grado será el (05/06/2020).

Sin otro particular por el momento, estoy a sus órdenes para cualquier duda o aclaración que consideren pertinente.

Atentamente

“ALERE FLAMMAM VERITATIS”

Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L. a 30 de abril de 2020

DR. ANTONIO ALBERTO ZALDIVAR CADENA
Director de Tesis



Av. Universidad S/N, Cd. Universitaria, C.P. 66455
San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México
Tels. 81 8329 4000 ext 7200 | 81 1442 4400
<http://fic.uanl.mx>



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FACULTAD DE INGENIERÍA CIVIL
INSTITUTO DE INGENIERÍA CIVIL

DR. GERARDO FAJARDO SAN MIGUEL
SUBDIRECTOR DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
PRESENTE.-

Estimado Dr. Fajardo:

Por medio de la presente hago de su conocimiento que finalicé la revisión de (Tesis) con título **“Desarrollo de Materiales Cementantes Bio-receptivos en la Colonización de Microalgas”** que presenta la **Arq. Gabriela Domínguez Huerta** como requisito parcial para obtener el grado de Maestra en Ciencias con Orientación en Materiales de Construcción, me permito informar a usted que después de haber leído y evaluado la calidad del documento, dictamino que el mismo es **APROBADO** y la fecha del examen de grado será el (05/06/2020).

Sin otro particular por el momento, estoy a sus órdenes para cualquier duda o aclaración que consideren pertinente.

Atentamente

“ALERE FLAMMAM VERITATIS”

Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L. a 30 de abril de 2020

Dr. JAVIER RODRIGO GONZÁLEZ LÓPEZ
Evaluador y Co-Director de Tesis



Av. Universidad S/N, Cd. Universitaria, C.P. 66455
San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México
Tels. 81 8329 4000 ext 7200 | 81 1442 4400
<http://fic.uanl.mx>



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



Facultad de Ciencias Biológicas
Instituto de Biotecnología

DR. GERARDO FAJARDO SAN MIGUEL
SUBDIRECTOR DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
PRESENTE.-

Estimado Dr. Fajardo:

Por medio de la presente hago de su conocimiento que finalicé la revisión de (Tesis) con título “Desarrollo de Materiales Cementantes Bio-receptivos en la Colonización de Microalgas” que presenta la **Arq. Gabriela Domínguez Huerta** como requisito parcial para obtener el grado de Maestra en Ciencias con Orientación en Materiales de Construcción, me permito informar a usted que después de haber leído y evaluado la calidad del documento, dictamino que el mismo es **APROBADO** y la fecha del examen de grado será el (05/06/2020).

Sin otro particular por el momento, estoy a sus órdenes para cualquier duda o aclaración que consideren pertinente.

Atentamente

“ALERE FLAMMAM VERITATIS”

Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L. a 30 de abril de 2020

DR. HUGO ALBERTO LUNA OLVERA

Evaluador



Av. Pedro de Alba y Manuel L. Barragán s/n, Ciudad Universitaria, C.P. 66455
San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México
Tel. (81) 8352 2422 • 8329 4000. Ext. 6415

Dedicatoria

A Dios debido a que él es aquel que me acompaña todo el tiempo, me ha brindado buenos momentos, pero sobre todo me ha enseñado a aprender de mis errores.

A mi madre y a mi padre porque aparte de darme la vida son las personas que más admiro en este mundo. Sin duda alguna me siento muy orgullosa de ser su hija, nunca podré pagarles todo lo que han hecho por mí. Gracias por enseñarme a ser una persona de bien, a ser responsable y trabajadora. Tengo el mejor ejemplo de ustedes para ser una gran persona. Durante la elaboración de este trabajo los amé y extrañé más de lo que aparentaba. Por último, les quiero agradecer haberme dado la familia que me dieron y sobre todo por mis hermanas.

A las inseparables cómplices de toda mi vida, mis hermanas, Maru, aunque no lo diga tan seguido eres la mejor hermana primogénita que Dios me pudo haber dado. Gracias por enseñarme a que nunca me tengo que rendir por muy mal que me encuentre. Rosy, ser la de en medio siempre te ha dado la capacidad de comprender dos mundos. Admiro la forma en la que has salido adelante en tu carrera profesional a pesar de las condiciones que se te presentaron. Pero sobre todo les agradezco a ustedes hermanas por haberme regalado la oportunidad de ser tía.

A mis encantadores sobrinos, Amanda, Abigail y Alonso. Por ustedes es que me esfuerzo a dar lo mejor de mí en cada proyecto que me propongo. Lamento mucho haberme perdido vivencias únicas de cada uno de ustedes, pero espero que

algún día lo comprendan. Siempre pensé que únicamente yo les iba a enseñar cosas sobre el mundo, pero de ustedes también he aprendido.

A toda la familia Domínguez y también la familia Huerta, estoy consciente que mis tías, tíos, primas y primos se preocupan. Cada uno en su momento me ha ayudado con palabras de ánimo o consejos de vida. Pero en especial a mis abuelas, Amada y Vicenta, porque son el pilar de cada una de las familias y me aman y comprenden tal y como soy. Siempre que pueden me demuestran su cariño de una manera muy particular.

Por último, pero no menos importante dedico este trabajo a todas las personas que Dios me ha mandado para guiarme en el camino. Hablo de mis mejores amigos de toda mi vida: Octavio, Renata, Rebeca, Jacaranda, León y Adrián. Gracias por seguir teniéndome en su corazón a pesar del tiempo y la distancia. También dedico este trabajo a los amigos que he conseguido por andar en la rúa, Clemente, Daniel y Osvaldo. Ustedes me han apoyado cuando me encontraba triste, a pesar del poco tiempo de conocernos. Gracias por todas las aventuras que tenemos cuando estamos cerca.

Agradecimientos

En primer lugar, agradezco a mis amigos de generación porque cuando podían me orientaban, me daban palabras de ánimo y sobre todo por los buenos momentos que pasamos juntos, muchas gracias Karlas y Adán.

Le agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca brindada con No. 820201, ya que de lo contrario este trabajo no se pudo haber llevado a cabo. También a la Universidad Autónoma de Nuevo León, a la Facultad de Ingeniería Civil y en especial al Instituto de Ingeniería Civil (IIC). A la Subdirección de Posgrado del IIC por haberme aceptado como estudiante en el programa de Maestría en Ciencias con Orientación en Materiales de Construcción.

De igual forma a la Facultad de Ciencias Biológicas y al Instituto de Biotecnología (IB) por haberme abierto las puertas de sus instalaciones, pero sobre todo las puertas del conocimiento. También al departamento de Ecomateriales del IIC por su ayuda en diversos ensayos.

A mi Director de Tesis el Dr. Antonio Alberto Záldivar Cadena por todo el aprendizaje compartido, por guiarme y sobre todo por haberme aceptado como su asesora, gracias porque creyó en mí para poder desarrollar este tema.

Al Dr. Hugo Alberto Luna Olvera por haber aceptado colaborar en conjunto y poder haber hecho la estancia en el IB. Le agradezco en demasía porque me hizo sentir parte de su equipo de trabajo, sus palabras, aunque fueron pocas siempre me motivaban a seguir adelante. También a la Dr. Magda Patricia Vargas Pérez por el apoyo durante toda la experimentación, por sus sabios consejos, correcciones y

comentarios oportunos. A la QBP Elvira Alejandra Cruz Pérez por toda la paciencia que me tuvo, por el apoyo incondicional, pero sobre todo por las risas compartidas.

A Dr. Javier Rodrigo González López, al Dr. Alejandro Durán Herrera, a la Dra. Mayra Zyzlila Figueroa Torres y al Dr. Ismael Flores Vivían porque más allá de las aulas cada uno de ustedes me ayudó en más de una forma y en más de una ocasión. Al personal del Laboratorio de Tecnología del Concreto y en especial al personal al personal del Laboratorio de Investigación de Materiales de Construcción, Técnico Gumaro Tovar Argüello, MC. Javier Cahuich Ramírez y a la MC. Aurora Soto Arreola por hacerme más amena la experimentación, por los momentos divertidos y sobre todo por los consejos brindados. Más allá de laboratoristas fueron una guía incondicional durante todo el camino recorrido.

A los amigos que hice mientras estudiaba, Juan Alberto, Gerardo, Vidal, Rita y Jazmín. Me encantó haberlos conocido y que me permitieran aprender de la vida con sus experiencias compartidas y más allá por abrirme su alma y corazón. Gracias a todas aquellas personas que colaboraron durante el desarrollo de esta investigación, no hubiera sido posible sin la ayuda de Natalia, Diana y a todos los chicos del servicio social del IB. Gracias por dedicarme tiempo, paciencia y alegrías.

A todos mis compañeros de maestría, tanto de estructuras como de materiales de construcción. Los dos años que pase en los cubículos me enseñaron muchas cosas, compartimos buenos y malos momentos, pero seguimos esforzándonos cada día. A todo el personal docente de la Maestría en Materiales de Construcción por compartir su bagaje y poder hacerlo mío.

Por último, agradecer a las empresas que donaron material para que este proyecto pudiera ser ejecutado, CEMEX y SIKA.

Índice

Índice de Figuras.....	x
Índice de Tablas	xv
Introducción.....	xvii
1.1 Hipótesis.....	1
1.2 Objetivo General	1
1.3 Objetivos Específicos	2
1.4 Justificación.....	3
2. Revisión Bibliográfica	4
2.1 Marco Teórico	4
2.1.1 La Biología y la Ingeniería en el Desarrollo de Bio-materiales....	4
2.1.2 Beneficios de Espacios Verdes Dentro de las Ciudades y Edificaciones	6
2.1.3 Desventajas de la Aparición de Organismos Vivos Dentro de las Edificaciones	8
2.1.4 El pH Dentro del Desarrollo de las Microalgas <i>Chlorella vulgaris</i> (<i>C. vulgaris</i>) y <i>Spirulina</i>	10
2.2 Antecedentes	12
2.2.1 Materiales Bio-receptivos.....	12
2.2.2 Utilización de Cal y Sulfato de Calcio como Cementantes.....	14

2.2.3	Adición de Subproductos Industriales en Matrices Cementantes	17
2.2.4	Desarrollo de Matrices Cementantes de Bajo pH	19
2.2.4.1	Sistema de Humo de Sílice y Cemento Portland Ordinario (HS/CPO)	19
2.2.4.2	Sistema Cal Hidratada, Ceniza Volante y Cemento Portland Ordinario (CH/CV/CPO).....	20
2.2.4.3	Sistema Anhidrita, Escoria de Alto Horno y Humo de Sílice (ANH/EAH/HS)	23
2.2.5	Medición del pH en Matrices Cementantes.....	25
2.2.5.1	Medición de la Profundidad de Carbonatación en Matrices Cementantes	26
2.2.6	La Porosidad Dentro de las Matrices Cementantes.....	27
2.2.7	La Rugosidad en Materiales Bio-receptivos.....	29
2.2.8	Importancia del Conjunto de las Características Químicas y Físicas Dentro de las Matrices Cementantes para ser Bio-receptivas.....	30
2.2.9	Cultivo e Inoculación de Microalgas.....	31
2.2.10	Estudio del Crecimiento y Desarrollo de las Microalgas	33
3.	Metodología Experimental.....	36
3.1	Diseño Experimental	36
3.2	Desarrollo de Matrices Cementantes	37

3.2.1	Descripción y Normativa de la Materia Prima	37
3.2.2	Técnicas de Caracterización de la Materia Prima y de los Especímenes 41	
3.2.3	Elaboración de los Especímenes.....	49
3.3	Evaluación de pH en los Especímenes.....	51
3.4	Proporcionamiento de las Matrices Cementantes.....	52
3.5	Preparación de las Muestras para el Análisis de FRX, DRX y MEB 54	
3.6	Producción de Cultivo de las Microalgas <i>C. vulgaris</i> , <i>Spirulina</i> y el Consorcio de Microalgas 1 (<i>Csc-1</i>).....	56
3.6.1	Arreglo Experimental de Biorreactores	56
3.6.2	Preparación de Medio Bristol	57
3.6.3	Evaluación del Desarrollo de las Microalgas <i>C. vulgaris</i> , <i>Spirulina</i> y el Consorcio de Microalgas 1 (<i>Csc-1</i>)	58
3.7	Sistemas Inoculación, Extractantes Óptimos de Clorofila “a” (Chl “a”) y Cuantificación de Biomasa	62
3.7.1	Prueba Preliminar de Método de Inoculación y Extractante de Clorofila “a” (Chl “a”)	62
3.8	Sistema de Inoculación por Goteo	65
3.9	Análisis de Resultados de la Clorofila “a” (Chl “a”) Extraída	68
3.10	Cuantificación de la Producción de Biomasa Final	69

4	Resultados y Discusión	71
4.1	Caracterización de la Materia Prima	71
4.1.1	Cemento Portland Ordinario (CPO)	71
4.1.2	Humo de Sílice (HS)	73
4.1.3	Cal Hidratada (CH)	74
4.1.4	Ceniza Volante (CV)	75
4.1.5	Anhidrita (ANH).....	76
4.1.6	Escoria de Alto Horno (EAH)	77
4.1.7	Agregado Fino	78
4.2	Evolución del pH en las Matrices Cementantes	79
4.2.1	Sistema de Referencia de Cemento Portland Ordinario (CPO-100)	79
4.2.2	Sistema de Humo de Sílice y Cemento Portland Ordinario (HS/CPO)	83
4.2.3	Sistema de Anhidrita, Escoria de Alto Horno y Humo de Sílice (ANH/EAH/HS)	86
4.2.4	Sistema de Cal Hidratada, Ceniza Volante y Cemento Portland Ordinario (CH/CV/CPO).....	90
4.3	Crecimiento de las Microalgas	94
4.4	Método de Inoculación y Extractante Óptimo de clorofila “a” (Chl “a”)	97

4.5	Colonización Aparente de las Matrices Cementantes	98
4.5.1	Sistema de Referencia Cemento Portland Ordinario (CPO-100) 98	
4.5.2	Sistema de Humo de Sílice y Cemento Portland Ordinario (HS/CPO) 105	
4.5.3	Sistema de Cal Hidratada, Ceniza Volante y Cemento Portland Ordinario (CH/CV/CPO).....	111
4.5.4	Sistema de Anhidrita, Escoria de Alto Horno y Humo de Sílice (ANH/EAH/HS) 116	
4.6	Concentración de Clorofila “a” (Chl “a”)	122
4.7	Biomasa Producida por las Microalgas <i>C. vulgaris</i> , <i>Spirulina</i> y el <i>Csc-1</i> en los Sistemas CPO-100, HS/CPO, CH/CV/CPO y ANH/EAH/HS	125
5.	Conclusiones	129
6.	Recomendaciones para Trabajos Futuros.....	133
	Referencias	135

Índice de Figuras

Figura 1 Aplicaciones de la Biotecnología en el ramo de la Construcción [24].	5
Figura 2 Ciclo de la cal [55].	15
Figura 3 Ciclo del sulfato de calcio [55].	16
Figura 4 Ciclo y transformaciones de fase del sulfato de calcio [88].	23
Figura 5. Arreglo experimental para el desarrollo de materiales bio-receptivos.	37
Figura 6 Prueba de contenido orgánico en el agregado fino de acuerdo a la Norma ASTM C40 [132].	41
Figura 7 Principio Físico de la técnica de FRX [134].	42
Figura 8 Principio físico de la DRX y Ley de Bragg [136].	43
Figura 9 Diseño básico de un microscopio electrónico de barrido [137].	44
Figura 10 Diagrama de operación de un picnómetro de gas [138].	45
Figura 11 Vista general del electrodo de vidrio y membrana intercambiadora de iones [139].	47
Figura 12 Perfilómetro de lápiz [141].	49
Figura 13 Matriz experimental del diseño de mezclas.	50
Figura 14 Arreglo experimental de los biorreactores.	56
Figura 15 Vista superior en primer plano de las áreas de conteo [146].	59
Figura 16 Celdas de conteo vistas desde el microscopio a una magnificación de A) 10x y B) 40x [147].	60
Figura 17. Principio físico de un espectrofotómetro de absorbancia [148].	61
Figura 18 Inoculación de especímenes del sistema CH/CV/CPO por medio de los métodos de A) contacto con el medio y B) goteo.	64

Figura 19 Sistema de inoculación por goteo.	66
Figura 20 Muestras del sistema HS/CPO: A) Sin inocular y B) Inoculada.....	70
<i>Figura 21. Análisis DRX del cemento CPO 40 CEMEX</i>	72
Figura 22 Análisis DRX de HS.	73
Figura 23 Análisis DRX de CH	74
Figura 24 Análisis DRX de CV.	75
Figura 25 Análisis DRX de ANH.....	76
Figura 26 Análisis DRX de EAH.	78
Figura 27. Análisis DRX de la Arena Sílica.	79
Figura 28 Evolución del pH en MC de CPO-100 a diferentes edades y relación a/mc.	80
Figura 29 Análisis DRX de la MC de CPO-100 con relación a/mc de 0.6 a diferentes edades.	82
Figura 30 Evolución del pH en MC del sistema HS/CPO a diferentes edades y relación a/mc.....	83
Figura 31 Análisis DRX de la MC del sistema HS/CPO con relación a/mc de 0.7 a diferentes edades.....	85
Figura 32 Evolución del pH en MC de ANH/EAH/HS a diferentes edades y relación a/mc.	87
Figura 33 Análisis DRX de la MC del sistema ANH/EAH/HS con relación a/mc de 0.6 a diferentes edades.....	89
Figura 34 Prueba de la profundidad de carbonatación en el sistema CH/CV/CPO con relación a/mc y días de carbonatación acelerada, A) a/mc de 0.7 con 5 días, B)	

a/mc de 0.6 con 5 días, C) a/mc de 0.7 con 10 días y D) a/mc de 0.6 con 10 días.	90
Figura 35 Efecto de la carbonatación a un 20% de CO ₂ sobre el pH en el sistema CH/CV/CPO con relaciones a/mc de 0.6 y 0.7.	92
Figura 36 Fases cristalinas presentes en la MC de CH/CV/CPO con relación a/mc de 0.7 a diferentes edades.	94
Figura 37 Micrografía del microalgas a 40X: A) Csc-1, B) C. vulgaris y C) Spirulina.	95
Figura 38 Gráfica del crecimiento de la microalga C. vulgaris.	96
Figura 39 Gráfica del crecimiento de la microalga Spirulina.	96
Figura 40 Extracción de la clorofila en función del medio, inoculación y extractante.	97
Figura 41 Evolución de la colonización de las microalgas C. vulgaris, Spirulina y Csc-1 en el sistema CPO-100.	99
Figura 42 Evolución de la colonización de la microalga C. vulgaris sobre el sistema CPO-100: A) Sin inocular, tiempo de inoculación de B) 1 semana, C) 3 semanas y D) 5 semanas.	101
Figura 43 Evolución de la colonización de la microalga Spirulina sobre las MC del sistema CPO-100: A) Sin inocular, tiempo de inoculación de B) 1 semana C) 3 semanas y D) 5 semanas.	102
Figura 44 Evolución de la colonización del Csc-1 sobre las MC del sistema CPO- 100: A) Sin inocular, tiempo de inoculación de B) 1 semana C) 3 semanas y D) 5 semanas.	104

Figura 45 Evolución de la colonización de las microalgas <i>C. vulgaris</i> , <i>Spirulina</i> y Csc-1 en el sistema HS/CPO.	106
Figura 46 Evolución de la colonización de la microalga <i>C. vulgaris</i> sobre las MC del sistema HS/CPO: A) Sin inocular, tiempo de inoculación de B) 1 semana C) 3 semanas y D) 5 semanas.....	107
Figura 47 Evolución de la colonización de la microalga <i>Spirulina</i> sobre las MC del sistema HS/CPO: A) Sin inocular, tiempo de inoculación de B) 1 semana C) 3 semanas y D) 5 semanas.....	108
Figura 48 Evolución de la colonización del Csc-1 sobre las MC del sistema HS/CPO: A) Sin inocular, tiempo de inoculación de B) 1 semana C) 3 semanas y D) 5 semanas.....	110
Figura 49 Evolución de la colonización de las microalgas <i>C. vulgaris</i> , <i>Spirulina</i>	111
Figura 50 Evolución de la colonización de la microalga <i>C. vulgaris</i> sobre las MC del sistema CH/CV/CPO: A) Sin inocular, tiempo de inoculación de B) 1 semana C) 3 semanas y D) 5 semanas.....	113
Figura 51 Evolución de la colonización de la microalga <i>Spirulina</i> sobre las MC del sistema CH/CV/CPO: A) Sin inocular, tiempo de inoculación B) 1 semana C) 3 semanas y D) 5 semanas.....	114
Figura 52 Evolución de la colonización del Csc-1 sobre las MC del sistema CH/CV/CPO: A) Sin inocular, tiempo de inoculación de B) 1 semana C) 3 semanas y D) 5 semanas.	116
Figura 53 Evolución de la colonización de las microalgas <i>C. vulgaris</i> , <i>Spirulina</i> y Csc-1 en el sistema ANH/EAH/HS.	117

Figura 54 Evolución de la colonización de la microalga <i>C. vulgaris</i> sobre la MC del sistema ANH/EAH/HS: A) Sin inocular, tiempo de inoculación de B) 1 semana C) 3 semanas y D) 5 semanas.....	118
Figura 55 Evolución de la colonización de la microalga <i>Spirulina</i> sobre las MC del sistema ANH/EAH/HS: A) Sin inocular, tiempo de inoculación B) 1 semana C) 3 semanas y D) 5 semanas.....	120
Figura 56 Evolución de la colonización del Csc-1 sobre las MC del sistema ANH/EAH/HS: A) Sin inocular, tiempo de inoculación de B) 1 semana C) 3 semanas y D) 5 semanas.	121
Figura 57 Evolución del porcentaje de Chl “a” durante 5 semanas de inoculación de los sistemas A)CPO-100, B)HS/CPO, C) CH/CV/CPO y D)ANH/EAH/HS.....	122
Figura 58 Producción de biomasa de las microalgas <i>C. vulgaris</i> , <i>Spirulina</i> y el Csc-1 en los sistemas CPO-100, HS/CPO, CH/CV/CPO y ANH/EAH/HS.....	125

Índice de Tablas

Tabla 1 Resumen de materiales bio-receptivos con sus características físicas y químicas.....	14
Tabla 2. Resumen de las propiedades físicas y químicas en la colonización de microalgas sobre diferentes sustratos.....	30
Tabla 3 Resumen comparativo de las condiciones y tipo de microorganismos utilizados en el desarrollo de materiales bio-receptivos.	32
Tabla 4 Densidad (ρ) de la materia prima.	53
Tabla 5 Diseño de las MC.	53
Tabla 6 Ecuaciones para la extracción de la Chl “a” [149].	68
Tabla 7 Composición química del CPO 40 CEMEX.....	72
Tabla 8 Composición química del HS.	73
Tabla 9 Composición química de la CH.	74
Tabla 10 Composición química de la CV.	75
Tabla 11 Composición química de la ANH.....	76
Tabla 12 Composición química de la EAH.	77
Tabla 13 Composición química de la Arena sílica.....	78
Tabla 14 Composición química y condiciones de trabajo de los morteros del CPO-100.	81
Tabla 15 Composición química y condiciones de trabajo de los morteros del sistema HS/CPO.....	84
Tabla 16 Composición química y condiciones de trabajo de los morteros del sistema ANH/EAH/HS.	88

Tabla 17 Composición química y condiciones de trabajo de los morteros del sistema CH/CV/CPO.	92
Tabla 18 Evaluación de la biomasa generada en las cuatro MC.....	126

Introducción

Dentro de las ciudades existe la implementación de Infraestructura Verde (IV) que se traduce a techos y muros verdes con el objetivo de purificar el aire de contaminantes [1]. Sin embargo, la fijación del CO_2 no solamente le corresponde a las plantas superiores (árboles, flores, etc.) sino también a las microalgas [2]. Las microalgas pueden colonizar los materiales de construcción cuando han sufrido un deterioro por estar a la intemperie. Lo anterior, es debido a que se presenta una disminución del valor de pH en la solución de poro dentro de la matriz cementante (MC) que se atribuye a la carbonatación ocasionada por el ingreso de CO_2 [3].

La disminución del valor de pH en la MC la hace bio-receptiva pudiendo así ser colonizada por microorganismos como las microalgas [4]. Un material bio-receptivo podría ser utilizado como una opción más en la IV por lo que en el presente proyecto de tesis se muestra el desarrollo de MC bio-receptivas. Se ha reportado que una de las condiciones necesarias de la MC para ser bio-receptiva es tener un valor de pH aproximado de nueve, además de condiciones físicas adecuadas de porosidad y rugosidad [5].

En este proyecto de tesis fueron desarrollados cuatro MC con nomenclatura CPO-100, HS/CPO, CH/CV/CPO y ANH/EAH/HS con la finalidad de evaluar la bio-receptividad de cada una de ellas. La MC de referencia CPO-100 fue en su totalidad de Cemento Portland Ordinario (CPO) debido a que es el material de construcción más utilizado actualmente [6]. La MC HS/CPO fue fabricada con la sustitución en peso de CPO por Humo Sílice (HS) ya que se ha reportado que altas sustituciones de HS generan MC poco alcalinas [7].

La MC CH/CV/CPO fue base Cal Hidratada (CH) con sustituciones de Ceniza Volante (CV) y CPO, debido a que durante su fraguado se presenta la carbonatación y su tendencia es hacia un valor de pH menor a 12 [8]. Por último, una MC ANH/EAH/HS base sulfato de calcio anhidro (CaSO_4) o anhidrita (ANH) con sustituciones de Escoria de Alto Horno (EAH) y HS debido a que es un material que por sus características químicas es menos alcalino [9].

El presente trabajo incluye la producción de las microalgas que tuvieron la función de colonizar las matrices cementantes CPO-100, HS/CPO, CH/CV/CPO y ANH/EAH/HS. Las microalgas seleccionadas para el desarrollo de la MC bio-receptivas fueron las microalgas *Chlorella vulgaris* (*C. vulgaris*), *Spirulina* y el *Consorcio de microalgas 1* (Csc-1). La microalga *C. vulgaris* fue seleccionada debido a que es una de las más utilizadas en el desarrollo de materiales de construcción bio-receptivos [5,10–13].

La microalga *Spirulina* fue seleccionada por su capacidad de habitar en ambientes con valores de pH en el rango de 9 al 11 [14,15], lo cual es importante si se considera que las MC base CPO tienen un pH entre 12 y 13 [16]. Por último, fue recolectada una muestra de un espécimen de concreto colonizado por microalgas y fue denominado como *consorcio de microalgas 1* (Csc-1), debido a que lo conforman más de un tipo de microalga desarrollándose de manera simbiótica [17]. Una vez seleccionados los sistemas CPO-100, HS/CPO, CH/CV/CPO y ANH/EAH/HS, se hizo el cultivo y producción de biomasa de las microalgas *C.vulgaris*, *Spirulina* y el *Csc-1* para su posterior inoculación en las MC bajo condiciones simuladas de laboratorio.

CAPÍTULO 1

1.1 Hipótesis

La sustitución parcial de los cementantes CPO y ANH por subproductos industriales (HS y EAH) en los sistemas HS/CPO y ANH/EAH/HS respectivamente, así como la carbonatación acelerada del sistema CH/CV/CPO con relaciones agua-material cementante (a/mc) de 0.6 y 0.7 proporcionarán las condiciones químicas y físicas adecuadas para obtener MC bio-receptivas para microalgas de tipo *C. vulgaris*, *Spirulina* y el *Csc-1* en un ambiente simulado.

1.2 Objetivo General

Desarrollar MC bio-receptivas en sistemas de tipo HS/CPO, CH/CV/CPO y ANH/EAH/HS en un ambiente simulado para que sean colonizadas por microalgas, al disminuir su pH con dos relaciones a/mc de 0.6 y 0.7 en comparación a una MC de referencia CPO-100.

1.3 Objetivos Específicos

- Caracterizar las materias primas: CPO, HS, CH, CV, ANH, EAH y agregado fino por medio de técnicas como: Fluorescencia de Rayos X (FRX), Difracción de Rayos X (DRX) y con ello conocer los elementos alcalinos en óxidos y las fases cristalinas dentro de ellas.
- Evaluación de la relación a/mc 0.6 y 0.7 de las MC óptimas de los sistemas CPO-100, HS/CPO, CH/CV/CPO y ANH/EAH/HS dentro de la porosidad y el tamaño de poro dentro de la colonización de las microalgas *C. vulgaris*, *Spirulina* y el *Csc-1*.
- Determinación de la relación de los valores de pH, porosidad, tamaño de poro y la rugosidad en las MC óptimas de los sistemas CPO-100, HS/CPO, CH/CV/CPO y ANH/EAH/HS dentro de la colonización de las microalgas *C. vulgaris*, *Spirulina* y el *Csc-1* por medio de la extracción de clorofila y producción de biomasa.
- Establecer el método de inoculación óptimo entre las técnicas de goteo y contacto con el medio, así como también el extractante óptimo por medio de un espectrofotómetro de absorbancia.
- Estudiar la formación de la bio-película y su morfología generada en los sistemas CPO-100, HS/CPO, ANH/EAH/HS y CH/CV/CPO. con ayuda de la Microscopia Electrónica de Barrido (MEB).
- Determinar la microalga óptima mediante la cuantificación de la concentración de clorofila extraída y biomasa producida durante el tiempo de colonización de las microalgas en las diferentes MC de este estudio.

1.4 Justificación

En los últimos años se ha evaluado la capacidad bio-receptiva de algunos materiales de construcción. Existen aquellas investigaciones donde se desarrolla un material nuevo como el Cemento de Fosfato de Magnesio (CFM) [10] cuya producción es costosa. Otro ejemplo es la producción de losetas de vidrio de desecho, generando un vidrio sodio-cálcico, pero la temperatura para obtenerlo es superior a los 700°C [13]. Aunque también existen aquellos estudios donde analizan la capacidad bio-receptiva de materiales existentes [5,18]. Otra opción sería utilizar materiales convencionales para el desarrollo de materiales bio-receptivos.

Partiendo de que es conocido que el pH disminuye con el tiempo debido a la carbonatación dentro de las MC base CPO o CH. Para este proyecto de tesis se desarrolló un sistema base CH. La generación del sistema HS/CPO parte de que altas sustituciones de HS en MC base CPO disminuye la alcalinidad, lo que favorece las condiciones para una buena bio-receptividad. Además, se utilizará ANH debido a que es un material poco alcalino al ser base sulfato (SO_4).

Al utilizar puzolanas artificiales como HS, CV y EAH en MC bio-receptivas se favorece la sustentabilidad, dándole un valor agregado. Esto debido a que se disminuyen las emisiones de CO_2 al sustituir parcialmente el contenido de cemento por subproductos industriales. La colonización por microalgas de las MC de los sistemas propuestos pudiera ser una alternativa dentro de la IV. Además, es importante mencionar la capacidad de adaptación que poseen las microalgas a diferentes ambientes y materiales, lo que las hace versátiles; así como también su capacidad de fijación de CO_2 y su producción de muy bajo costo.

CAPÍTULO 2










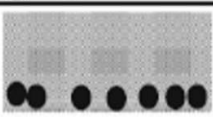
2. Revisión Bibliográfica

2.1 Marco Teórico

2.1.1 La Biología y la Ingeniería en el Desarrollo de Bio-materiales

La unión de la Biología y la Ingeniería ha emergido rápidamente para estar en la vanguardia de la investigación de materiales desde que Thompson elaboró su trabajo en el año 1945 [19]. El campo de la ciencia de los materiales que se apoya en la biología puede dividirse en tres áreas: 1) Materiales biológicos que es el estudio de materiales naturales como hueso, piel, etc., 2) Bio-mimética o diseño de materiales que están inspirados en la naturaleza y 3) Bio-materiales que es la aplicación de materiales orgánicos en el ámbito de la ingeniería como implantes, etc. [20].

El análisis de los bio-materiales requiere conocimiento de los principios tanto biológicos como de ingeniería constituyendo una nueva área de investigación llamada biotecnología [21]. Esta se encarga de la aplicación de procesos biológicos a escala industrial y tiene muchas áreas de desarrollo como la industria de alimentos, medicina entre otras [22]; una de las áreas que se beneficia de la aplicación de los microorganismos es la Ingeniería Civil. Aunque es conocido que la aparición de microorganismos puede tener un efecto negativo, últimamente se ha estudiado que su implementación en estructuras de concreto puede tener efectos positivos para la MC [21,23]. En la Figura 1 se muestra un listado de diversas aplicaciones de la biotecnología en la Ingeniería Civil clasificados en base a su tratamiento microbiano.

Material antes del bio-tratamiento	Tipo de procesos de bio-tratamiento	Partículas del material después del bio-tratamiento
	Bioagregación , aumento del tamaño de las partículas del suelo para reducir la erosión del suelo y la emisión de polvo.	
	Biocustancias , formación de costra en el suelo para reducir la erosión del viento y el agua, la emisión de polvo y la infiltración de agua.	
	Biorecubrimiento , formación de una capa sobre el sustrato para que se mejore la colonización o la estética de la superficie.	
	Bioobstructor , llenando los poros y canales en el suelo para que la conductividad hidráulica del suelo se reduzca.	
	Biocementación , unión de las partículas del suelo aumentando significativamente la resistencia del mismo.	



 Material antes del tratamiento
  Biocemento

Figura 1. Aplicaciones de la Biotecnología en el ramo de la Construcción [24].

El tratamiento microbiano que es de interés para esta investigación es el Bio-recubrimiento que se define como la formación de una capa de microorganismos debido a la colonización de un área sólida con la finalidad de mejorar su estética [25]. El término bio-receptividad fue introducido por Guillitte en el año de 1995 [26], pero fue hasta hace poco que se pudo clasificar dentro de la Biotecnología Microbiana de la Construcción [25]. Recubrir la superficie de las MC con microorganismos para mejorar la estética no es la única opción.

El recubrimiento con una capa vegetal dentro de los edificios es algo que ya se ha visto con anterioridad generando la llamada Infraestructura Verde (IV) [27]. La utilización de estructuras que estén cubiertas por vegetación es algo que ya se puede observar en la actualidad muy probablemente porque tiene más de un beneficio.

2.1.2 Beneficios de Espacios Verdes Dentro de las Ciudades y Edificaciones

El término Infraestructura Verde (IV) se refiere a una red planificada adecuadamente con zonas naturales y seminaturales. La (IV) es la suma de espacios verdes o azules como son los espejos de agua, lagos artificiales, etc. está presente en entornos urbanos y rurales [28]. La Infraestructura Verde Urbana (IVU) nace como consecuencia de la IV y tiene el potencial de beneficiar a la mayoría de los habitantes como un regulador contra el cambio climático [1]. Así mismo, puede ayudar a reducir las emisiones de CO₂ y aumentar considerablemente la calidad de

vida en una ciudad [29]. Es bien conocido que las zonas urbanas son las que más generan CO₂ y de igual forma son las que menos áreas verdes poseen.

Dentro de las zonas urbanas existen diversos fenómenos originados por la sobrepoblación de la misma. Uno de los más importantes es conocido como la Isla de Calor Urbana (ICU) debido a que una parte de la energía que demanda la ciudad es disipada en forma de calor. Este a su vez, se intensifica por la radiación solar y es absorbido por las edificaciones y liberado por las noches de una manera lenta [30]. Lo anterior, ocasiona que se requiera más energía para mantener los espacios interiores frescos y se convierte en un proceso cíclico.

Con el aumento de la población en las distintas urbes se ven reducidas las áreas verdes, lo que ocasiona que el efecto ICU se acentúe en mayor proporción [30,31]. Una de las formas de mitigar el calor absorbido es con techos verdes ya que tienen la capacidad de reducir el efecto de la ICU [32]. Por lo anterior, es recomendable recubrir las edificaciones con vegetación, debido a que se ha demostrado que absorben entre el 15 y el 50% de la radiación solar transformándolo en calor latente [27]. Así como también contribuyen a la reducción de la transferencia de calor a través de la envolvente del edificio [33]. Existen otras opciones similares a la de los techos verdes que se están utilizando actualmente.

Los muros verdes, al igual que los techos verdes, mantienen una temperatura más fresca dentro del edificio en época de calor y más caliente en época de frío [27]. Las fachadas y los muros verdes disminuyen la temperatura interior de los espacios habitados debido a que se absorbe menos energía del sol en comparación con las fachadas convencionales [27]. Los beneficios de la implementación de los techos y muros verdes van más allá de los térmicos.

Otra ventaja que presentan los techos y muros verdes es que se consideran eficaces para reducir la contaminación acústica que tienen su origen por el tránsito de las vialidades, ferrocarril o aéreo [34]. En la valoración de los beneficios acústicos es importante considerar el espesor de la tierra, sustrato y el tipo de vegetación a utilizar [28]. De lo anterior, es muy probable que no solamente las plantas tengan esos beneficios, sino que también las microalgas.

Existen investigaciones que han sugerido estudiar las capacidades de aislamiento acústico que poseen los muros con la implementación de microalgas [35,36]. Lo anterior, fue originado en Hamburgo, Alemania, donde fue construido un edificio que utiliza en la totalidad de sus fachadas paneles que son biorreactores de microalgas [37]. Se hizo la evaluación del comportamiento térmico en estas fachadas concluyendo que tienen un buen aislamiento térmico [36]. De los estudios anteriores se ha comprobado la capacidad térmica de las microalgas en fachadas, pero también se ha generado la duda de sus capacidades de aislamiento acústico.

Es importante mencionar que en esta investigación se tiene como alcance desarrollar MC bio-receptivas. Por lo que se tiene que diferenciar la bio-receptividad de la aparición dañina de microorganismos en los materiales de construcción.

2.1.3 Desventajas de la Aparición de Organismos Vivos Dentro de las Edificaciones

Los materiales de construcción al estar expuestos a la intemperie bajo condiciones como el sol, nieve, lluvia, viento, etc., sufren un proceso natural de desgaste y un deterioro por causas naturales. La interacción con la atmósfera juega

un papel importante de igual forma, así como los procesos biológicos [38]. El bio-deterioro se define como cambios indeseables en las propiedades de un material causado por la actividad vital de algunos organismos. Por otra parte, la biodegradación es el proceso destructivo de un material por organismos vivos o por productos de su metabolismo [39]. Por lo anterior, se puede decir que la biodegradación es más agresiva que el bio-deterioro.

La actividad de los microorganismos que promueve la biodegradación de los materiales pétreos está íntimamente ligado con la producción de metabolitos corrosivos los cuales solubilizan minerales de una manera similar a los agentes químicos [38]. Se ha identificado que bacterias, cianobacterias y hongos son capaces de crecer en materiales de construcción [40]. Sin embargo, las propiedades fisiológicas, bioquímicas y morfológicas de los hongos los convierten en la causa más frecuente de biodegradación de los materiales pétreos y de construcción [41]. El concreto al ser un material de construcción también presenta un desgaste ocasionado por los microorganismos que puede provocar un daño parcial o total.

Los hongos cuando aparecen tienen efectos antiestéticos, ya que generan cambios de color como puntos negros, también provocan micro grietas originadas debido a la penetración de sus micelios causando fisuras a los materiales [40]. Se ha determinado que la relación agua cemento (a/c) está relacionada con la capacidad de colonización de los hongos, es decir, se ha reportado que a mayor relación a/c se tiene una mayor producción de hongos [42]. Wicktor y col. reportaron un proceso acelerado de inoculación en donde los hongos tienen la capacidad de colonizar la superficie de la MC desde la primera semana de incubación. Sin embargo, después de 12 semanas empezaron a ser más evidentes los daños que

podieron ser observados por Microscopia Óptica y a simple vista [40]. Los hongos generan daños en los sustratos, por lo que se puede decir que, el material colonizado está siendo biodegradado.

Las tuberías del drenaje profundo sanitario son las más susceptibles a alojar bacterias, debido a que el sulfuro de hidrógeno (H_2S) producido por bacterias reductoras de sulfato puede reaccionar con hidróxido de calcio $[Ca(OH)_2]$ para formar bisulfuro de calcio (CaS). Las bacterias pueden reducir el valor de pH de la MC de 5 a 3 [23] y tienen la capacidad de reducir la resistencia a la compresión de pastas de cemento hasta en un 96% [43]. Es importante mencionar que la diferencia entre la biodegradación con la bio-receptividad es que los microorganismos vivos no originan ninguna clase de daño dentro de la MC.

2.1.4 El pH Dentro del Desarrollo de las Microalgas *Chlorella vulgaris* (*C. vulgaris*) y *Spirulina*

Los microorganismos al ser tan diminutos son muy susceptibles a diferencias y/o cambios bruscos de variables como la temperatura, la presión y el pH que influye en su desarrollo [44]. Soren Sorensen y col. propusieron el valor de pH como una medida más práctica para trabajar con las concentraciones de iones H^+ y OH^- en disoluciones acuosas. El pH de una disolución se define como el logaritmo negativo de la concentración del ion hidrógeno (en mol/L) tal y como se indica en la ecuación 1 [45]:

$$pH = -\text{Log} [H^+] \quad (1)$$

Las disoluciones ácidas y básicas a 25°C se identifican por sus valores del pH, siendo ácidos los valores de $\text{pH} < 7$, básicos valores de $\text{pH} > 7$ y disoluciones neutras por su $\text{pH} = 7$ [45].

El valor de pH más favorable para el crecimiento de los microorganismos se le denomina pH óptimo de crecimiento. En cambio, el valor de pH más desfavorable para los organismos es llamado pH mínimo de crecimiento y el rango de pH más alto para su desarrollo es conocido como pH máximo de crecimiento [46]. Los microorganismos se pueden clasificar con base en su valor de pH óptimo de crecimiento y se denominan acidófilos cuando viven en un pH entre 0-5.5, neutrófilos en un rango de 5.5-8 y alcalófilos entre 8-11.5 [44]. Con base en lo anterior, un microorganismo alcalófilo difícilmente se desarrollaría en un pH ácido y viceversa.

La microalga *C. vulgaris* son células unicelulares de coloración verde que se deriva de pigmentos de un tipo de clorofila llamada “b”. Las células de la microalga *C. vulgaris* se desarrollan más rápidamente en presencia de factores como agua, rayos del sol, CO_2 y nutrientes [47]. Se han reportado estudios de la microalga *C. vulgaris* sometida a distintos medios con valores de pH en el rango de 7 a 10 y los mejores resultados fueron obtenidos en valores de pH cercanos al neutro [48–50]. De lo anterior, se pudo concluir que el valor de pH de 7 es el óptimo de crecimiento para la micro alga *C. Vulgaris* siendo de tipo neutrófila.

Además, fue seleccionada la microalga *Arthrospira platensis* conocida como *Spirulina* de coloración verde-azul y tiene la propiedad de formar filamentos helicoidales multicelulares no ramificados de 200-300 μm de longitud y 5-10 μm de ancho [51]. Se han reportado trabajos en donde se ha estudiado la influencia del pH

en su crecimiento en un rango entre 5-12. [14,51]. Sin embargo, el rango más común de pH para su crecimiento es entre 9 y 10 [15,52,53]. Una ventaja de utilizar la microalga *Spirulina* es que se ha reportado que tiene una mayor capacidad de fijación del CO₂ en comparación a la microalga *C. vulgaris* [52]. Las microalga *Spirulina* se puede considerar alcalófila, de fácil producción y muy popular a nivel bio-industrial.

2.2 Antecedentes

2.2.1 Materiales Bio-receptivos

Manso y col. [10] en una primera investigación analizaron la capacidad bio-receptiva del Cemento Portland Ordinario (CPO) y del Cemento de Fosfato de Magnesio (CFM). Ellos reportaron que para disminuir el pH de las MC base CPO utilizaron ácido bórico (H₃BO₃) y ácido oxálico ((COOH)₂•2H₂O) en el agua de mezclado sin lograr la disminución de pH como se pretendía. El CFM fue una producción exclusiva para la investigación dando como resultado un pH más cercano al 7. Manso y col. [11] en una segunda investigación hicieron la inoculación de la microalga *C. vulgaris* sobre especímenes de mortero a diferentes relaciones a/mc en condiciones de laboratorio encontrando que las MC de CFM son más bio-receptivos que las de CPO debido a los valores de pH.

Manso y col. [12] en una tercera investigación, sometieron especímenes en condiciones *in situ* en tres diferentes ciudades y en dos de ellas las muestras elaboradas con CFM mostraron ser más bio-receptivas que aquellas de CPO. Sin embargo, en una de las ciudades los especímenes de CPO presentaron una ventaja contra el CFM y concluyeron que pudiera haber sido por un proceso de

carbonatación. Las características químicas de una MC son muy importantes para poder dar paso a la colonización de microorganismos, de no conseguir un pH óptimo esto podría no ser posible.

D'Orazio y col. [5] analizaron la capacidad bio-receptiva de ladrillos de arcilla y un sistema de fachada integral muy usado en Europa denominado Sistema Compuesto de Aislamiento Térmico Externo. Este sistema es fabricado a base de diversas capas que van desde aislantes hasta el acabado. En esa investigación únicamente analizaron las características físicas, el valor de pH de las variables no fue considerado. Ellos concluyeron que las características físicas como la absorción, porosidad y rugosidad de los materiales son muy importantes para poder ser colonizados por microorganismos, siendo la rugosidad la llave para la adhesión de los microorganismos al sustrato. Además, determinaron que el ladrillo de arcilla es mucho más bio-receptivo. Aunque el pH de los ladrillos no se haya determinado es reportado que los materiales de arcilla son capaces de alojar microorganismos [4]. Es importante señalar que en este estudio los autores únicamente se enfocaron en las características físicas de los materiales para analizar su capacidad bio-receptiva.

Ferrándiz-Mas y col. [13] desarrollaron un vidrio con cullet de desecho base sódico-cálcico debido a que este material posee un pH más cercano al neutro que el CPO. Ellos concluyeron que la bio-receptividad del vidrio sódico-cálcico está directamente relacionado con la temperatura de fabricación de las losetas y la capacidad traslúcida de las mismas. Además, reportaron que la porosidad del material está relacionada con la capacidad de colonización de los microorganismos. El desarrollo del material con cullet de vidrio permite controlar todo el proceso de

producción del vidrio sodio-cálcico para generar las propiedades químicas y físicas que requiere el material para ser bio-receptivo.

En la Tabla 1 se resume la información reportada en la literatura científica de los valores obtenidos de pH, porosidad (en porcentaje de vacíos) y rugosidad que se han obtenido en diversos trabajos en la búsqueda de un material bio-receptivo.

Tabla 1. Resumen de materiales bio-receptivos con sus características físicas y químicas.

Material	pH	Porosidad (%)	Norma ASTM	Rugosidad (μm)	Cuantificación de Biomasa (mg/ cm²)
CPO [10–12]	≈ 9	12.27	C642	0.03	±0.00
CFM [10–12]	6.7	2.47	C642	0.06	20
SCATE [5]	N/A	24.05	D4404	13.98	5
Ladrillos [5]	N/A	38.82	D4404	6.49-9.65	14
Vidrio sodio-cálcico 700°C [5]	9.4	17.8	C642	N/A	0.01109
Vidrio sodio-cálcico 680°C [5]	9.8	33.5	C642	N/A	0.0045

*N/A: No aplica

De lo anterior se puede determinar que la bio-receptividad de un material depende en gran parte de sus propiedades físicas y químicas.

2.2.2 Utilización de Cal y Sulfato de Calcio como Cementantes

La utilización de morteros base cal ha tomado mayor importancia debido a que requiere de menor energía para su producción [54]. Lo anterior, se debe a que la producción de la cal es bastante simple y solo involucra el calentamiento de la piedra caliza a 850°C siendo una temperatura inferior a la que requiere el cemento Portland [55]. Existen dos tipos de cal que son la viva y la hidratada (CH). La cal

viva es aquella que está compuesta en mayor proporción de óxido de calcio (CaO) y en menor proporción de óxido de magnesio (MgO) [56]. La CH está compuesta por hidróxido de calcio [Ca(OH)₂] [8,57]. En la Figura 2 se muestra el ciclo de la cal con sus transformaciones de fase y sus principales productos de reacción.

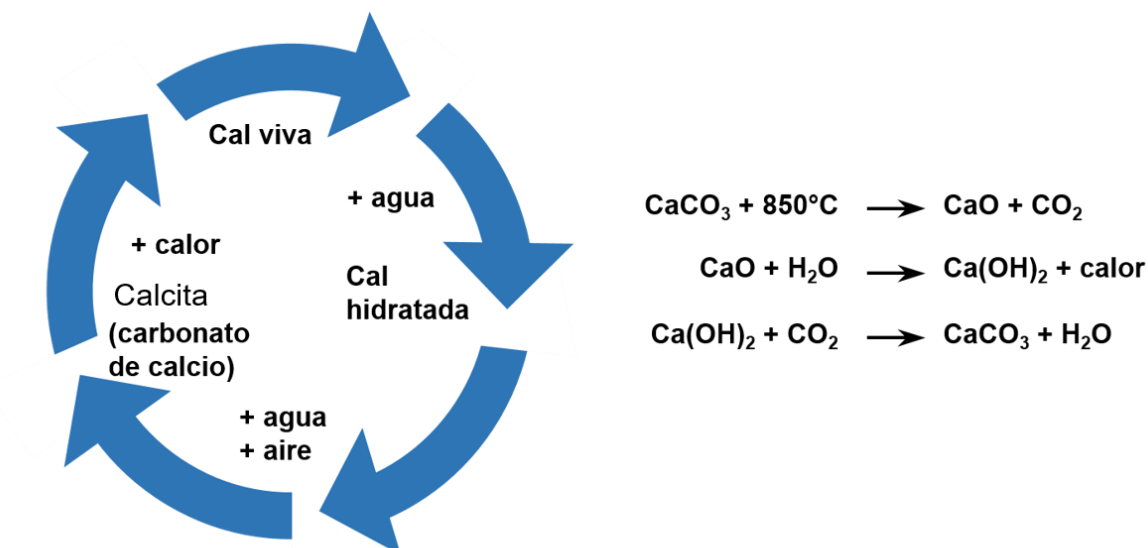


Figura 2. Ciclo de la cal [55].

La cal viva reacciona con la humedad del ambiente y se convierte en [Ca(OH)₂], para después reaccionar con el CO₂ atmosférico [8,56] formando carbonato de calcio en su fase calcita (CaCO₃), el cual es significativamente más fuerte y menos soluble que la portlandita que reemplaza [8]. El tipo de cal que se va a utilizar en la presente investigación es la CH como material cementante.

Por otro lado, el yeso o sulfato de calcio dihidratado (DH) (CaSO₄·2H₂O) es un material que se ha utilizado desde hace algún tiempo como material de construcción. La deshidratación del yeso requiere de una calcinación sencilla que varía de 120 a 160°C y su rehidratación ocurre en cuestión de minutos a

temperatura ambiente [55]. En la Figura 3 se ve ilustrado el ciclo del sulfato de calcio donde se puede observar que pierde sus dos moléculas de agua ligada químicamente al ser sometido a una temperatura superior a 120°C. Lo anterior, genera como producto de reacción una molécula y media de agua y sulfato de calcio ligado a media molécula de agua por lo que se le conoce como hemihidrato (HH).

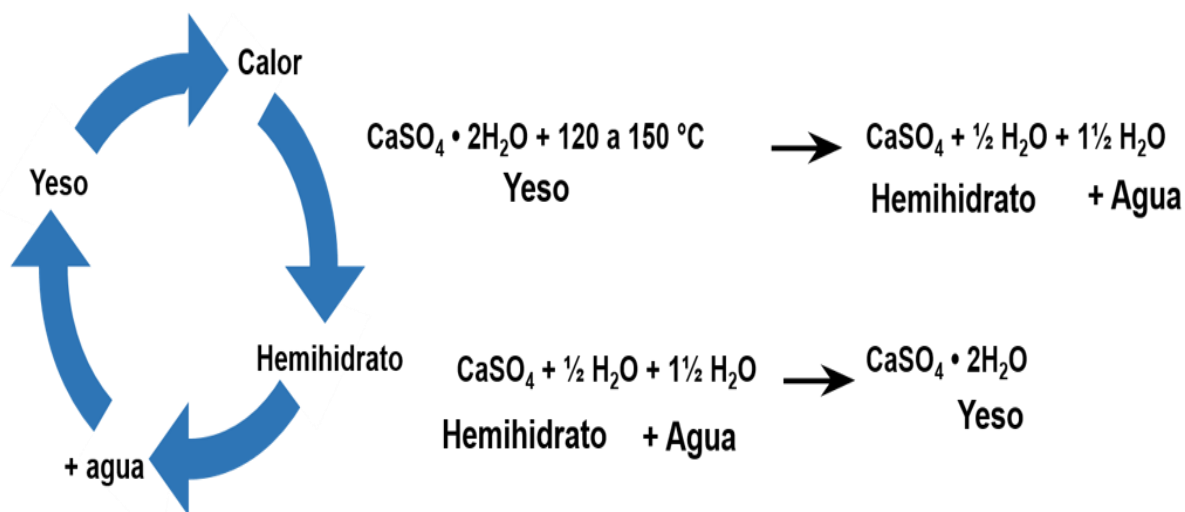


Figura 3. Ciclo del sulfato de calcio [55].

El yeso es un material de construcción económico y fácil de usar para aplicaciones en interiores. Sin embargo, presenta algunos inconvenientes debido a que al contacto con la humedad sus propiedades mecánicas como la dureza, resistencia a la compresión, resistencia a la flexión y módulo de elasticidad se ven disminuidos considerablemente [58]. Es por eso que su uso en la construcción está limitado al interior de los espacios habitables.

Actualmente se han reportado metodologías para mejorar las propiedades mecánicas de materiales base yeso siendo una de las más eficientes y rentables la adición de cemento Portland o mezclado con subproductos industriales [59]. La

utilización de MC base yeso puede ser posible mejorando la solubilidad con el agua y así utilizarlo en exteriores.

2.2.3 Adición de Subproductos Industriales en Matrices Cementantes

El Humo de Sílice (HS) es un subproducto del proceso de fundición en la industria del silicio y ferrosilicio debido a su finura extrema, aunado a su alto contenido de sílice en una concentración en el rango de 75 – 95 % e.p. es considerado una puzolana artificial [60,61]. Además, el HS es utilizado muy frecuente para mejorar las propiedades de los concretos y en especial los de alto y ultra alto comportamiento, morteros de reparación y grouts entre otras muchas aplicaciones [60–62]. En la actualidad la adición de HS a MC base cemento Portland es muy frecuente para mejorar diversas propiedades del concreto.

Las adiciones de HS mejoran el comportamiento mecánico del concreto a edades de curado tardías mediante el refinamiento de la microestructura y la transformación del hidróxido de calcio $[\text{Ca}(\text{OH})_2]$ en silicato de calcio hidratado (S-C-H) [61,63]. Sin embargo, las adiciones superiores al 10% de HS disminuyen la trabajabilidad en las MC y se requiere del uso de un aditivo súper plastificante [61,64]. Es de suma importancia conocer los efectos secundarios que la HS puede generar dentro de las MC para poder desarrollar un trabajo adecuado.

A diferencia que el HS, la Ceniza Volante (CV) es un subproducto de los procesos de combustión del carbón y está compuesta de partículas esféricas finamente divididas con un diámetro de 1-150 μm obtenidas de un sistema de

recolección de polvos o cuartos colectores. Los principales componentes en óxidos de las CV son óxido de silicio (SiO_2), óxido de aluminio (Al_2O_3), óxido férrico (Fe_2O_3) y óxido de calcio (CaO) [65]. El alto contenido de SiO_2 en la CV hace que sea de las puzolanas artificiales más utilizadas haciéndola ideal para utilizarse en diferentes MC.

Se han reportado diferentes investigaciones que tratan acerca de las aplicaciones de la CV dentro de la MC de manera sustentable [66,67]. El uso de CV dentro de las MC mejora de forma positiva algunas propiedades como la trabajabilidad, a diferencia del HS [64]. Sin embargo, las adiciones de CV pueden ocasionar un deterioro mayor debido al ataque por sulfatos [61]. Al no ser un producto industrializado, sino más bien de desecho se debe de considerar factores como su composición química para asegurar una buena calidad de las MC.

Finalmente, la Escoria de Alto Horno (EAH) es un subproducto obtenido en la fabricación de arrabio en el alto horno [68]. En su composición química están involucrados silicatos y aluminosilicatos de calcio [69]. Es muy conocido que la EAH posee una gran cantidad de óxido de calcio (CaO) dentro de su composición química a diferencia del HS y la CV.

Cuando la escoria en estado líquido es enfriada rápidamente con agua, se obtiene una escoria con morfología de tipo granular y de vidriado fino conocida en el ambiente metalúrgico como escoria granulada con propiedades hidráulicas. La actividad hidráulica depende de la basicidad de la escoria, es decir, cuanto más básica es la escoria, mayor será su actividad hidráulica en presencia de activadores alcalinos [69]. Por lo que conocer la composición química de la EAH a utilizar es de suma importancia para conocer si se puede utilizar según su aplicación.

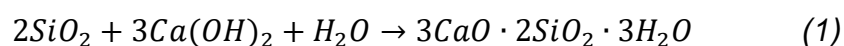
Se ha reportado que la EAH finamente molida presenta excelentes propiedades cementantes cuando se utiliza con cemento Portland o como activador alcalino. Es importante conocer la basicidad e hidraulicidad de la EAH debido a que se puede conocer sus propiedades cementantes [69]. La importancia de la basicidad e hidraulicidad de la EAH es debido a que a partir de su composición química se puede conocer si se puede o no utilizar como cementante.

2.2.4 Desarrollo de Matrices Cementantes de Bajo pH

2.2.4.1 Sistema de Humo de Sílice y Cemento Portland Ordinario (HS/CPO)

Desde hace tiempo se ha estado investigando sobre el desarrollo de MC base cemento Portland con altas sustituciones de subproductos industriales [70]. Además, se ha reportado que entre más sílice amorfa (SiO_2) contenga la pasta, menor será el pH dentro de la solución de poro [71]. Por lo que es de suma importancia un alto contenido de SiO_2 en el subproducto industrial dentro de la MC como el HS el cual fue seleccionado en este proyecto de tesis.

Existen ciertos factores que disminuyen el valor de pH dentro de la MC, como el porcentaje de sustitución del subproducto por el CPO. Se ha reportado que en sustituciones mayores al 50% e.p. del subproducto industrial por el CPO se consume toda la portlandita [$\text{Ca}(\text{OH})_2$] debido a la reacción puzolánica [7] que se muestra a continuación.



Puzolana + Portlandita + Agua \rightarrow Silicatos de Calcio Hidratados

El alto valor de pH se debe a que los productos de hidratación del cemento producen iones de hidróxido (OH^-) y al haber menos contenido de cemento, se forman menos de estos iones OH^- y por lo tanto el pH es menor [72]. De lo anterior, en la presente investigación se propone que el porcentaje de sustitución en masa sea de 30% de CPO y 70% de HS.

La relación agua – material cementante (a/mc) es otro factor que influye en la disminución de los iones OH^- en MC de cemento Portland con altas sustituciones de subproductos industriales. Q. Pu y col. reportaron que al incrementar la relación a/mc de 0.5 a 0.6 se reduce la concentración de iones OH^- en la MC [72]. Los especímenes con relación a/mc de 0.6 presentaron una mayor porosidad y una mayor proporción de poros capilares con respecto a los de a/mc de 0.5 [73]. Es por eso que las relaciones a/mc utilizadas en este proyecto de tesis fueron 0.6 y 0.7 para el sistema de referencia CPO-100 y para el sistema HS/CPO. Las mediciones de pH fueron realizadas a 1, 7, 14, 28,56 y 90 días de curado.

2.2.4.2 Sistema Cal Hidratada, Ceniza Volante y Cemento Portland Ordinario (CH/CV/CPO)

En MC base CH el mecanismo de endurecimiento se forma gracias a la carbonatación de la cal [74]. La presencia del agua es esencial para que se presente la carbonatación, ya que requiere la disolución de CO_2 . Las cinco etapas de la carbonatación son: 1) Difusión del CO_2 gaseoso a través de los poros de la matriz; 2) Disolución del CO_2 en la solución de poro; 3) Disolución del $[\text{Ca}(\text{OH})_2]$ en la

solución de poro; 4) Reacción de disolución entre $[\text{Ca}(\text{OH})_2]$ y CO_2 ; y 5) Precipitación del CaCO_3 sólido [8].

La carbonatación es un proceso natural y cíclico dentro de las MC base de cal viva o CH y se ha estudiado de manera natural o de manera acelerada al someter los especímenes a una cámara de carbonatación [8,56]. La concentración de CO_2 puede tener variaciones cuando se utiliza una cámara de carbonatación. En algunas investigaciones se ha reportado que se utilizan concentraciones de CO_2 muy pequeñas de 350-1000 ppm [8,56,75]. Sin embargo, se han reportado trabajos donde utilizan concentraciones de CO_2 en el rango de un 5 - 50 % [72,76]. De lo anterior, en este proyecto de tesis se decidió utilizar el 20 % de CO_2 por estar en una rango medio entre el 1 - 50 % a pesar de que la norma europea EN 13295 [77] indica utilizar solamente una concentración de un 1%.

Otro factor que se ha estudiado cuando se someten los especímenes a la cámara de carbonatación es el tiempo de permanencia. Existen estudios donde el tiempo de carbonatación es de 30 días consecutivos y también se ha reportado el caso donde se evalúa la penetración de la carbonatación a 10, 21 y 90 días [56,76]. En este proyecto de investigación el tiempo de permanencia en la cámara de carbonatación fue de 5, 10, 15 y 20 días, además de determinar su respectivo valor de pH para los especímenes del sistema CH/CV/CPO.

Las condiciones de curado de MC base CH han sido estudiadas considerando variables como la temperatura, porcentaje de humedad relativa (HR) y tiempo. Se ha reportado que la temperatura más utilizada durante el proceso de carbonatación con CO_2 es de $20 \pm 5^\circ\text{C}$ [57,75,78–80]. Sin embargo, también se han

estudiado a una temperatura más alta de 50°C [54]. La temperatura de curado utilizada en este proyecto de tesis fue de $20 \pm 5^\circ\text{C}$.

Algunos autores han reportado haber utilizado una Humedad Relativa (HR) de $60 \pm 5 \%$ para el curado de los especímenes dentro de una cámara de curado en condiciones de laboratorio [56,79,80]. Sin embargo, la mayor parte de los trabajos reportados han utilizado una HR por arriba del $90 \pm 5 \%$ [8,57,78,80,81]. El tiempo de curado en su mayoría coincide entre 3-10 días [75,78,81], siendo 7 días el más frecuente [57,78,79]. En este proyecto de investigación las condiciones de curado fueron a una HR superior a $90 \pm 5 \%$ durante 7 días posterior a su elaboración y antes de aplicar carbonatación acelerada en la cámara de carbonatación.

Se ha evaluado la utilización de puzolanas dentro de MC base CH y la carbonatación de MC base CPO o CH con adiciones de CV [82–84]. Por lo anterior, en este proyecto de tesis fue propuesto como puzolana la CV en la elaboración de las MC con CH. El sistema ternario CH/CV/CPO está compuesto por dos materiales cementantes (CH y CPO) y de una puzolana artificial (subproducto industrial) como la CV.

Se ha reportado que la adición de puzolana en una MC base cal presenta efectos sobre la porosidad. A. Arizzi, y col. utilizaron un mismo porcentaje en masa de CH, diferentes porcentajes de sustitución de CPO y de puzolana. Los autores concluyeron que la puzolana tiene un efecto en la cantidad de poros dentro de la MC y que la adición del 20% de puzolana produce una mejora sobre las propiedades mecánicas [79]. Por lo anterior, en este proyecto de investigación el porcentaje de

sustitución en peso de CH fue del 50%, 25 % de CV y 25% de CPO. Además de utilizar relaciones a/mc de 0.6 y 0.7.

2.2.4.3 Sistema Anhidrita, Escoria de Alto Horno y Humo de Sílice (ANH/EAH/HS)

Se ha reportado el uso de sulfato de calcio hemihidrato (HH) como cementante debido a que su producción genera menos emisiones de CO₂ en comparación a la del CPO [85]. El sulfato de calcio tiene otro estado de hidratación que se le conoce como sulfato de calcio anhidro o anhidrita (ANH) debido a que pierde toda el agua químicamente ligada [86]. En la Figura 4 se puede observar el ciclo del sulfato de calcio en sus tres fases cristalinas como DH, HH y ANH. La transformación de fase de DH a HH se puede obtener en un rango de temperatura entre 120-160 °C y la fase ANH a temperaturas superiores a 300°C a una presión estándar [87]. La calcinación del sulfato de calcio es la forma más común de obtener ANH.

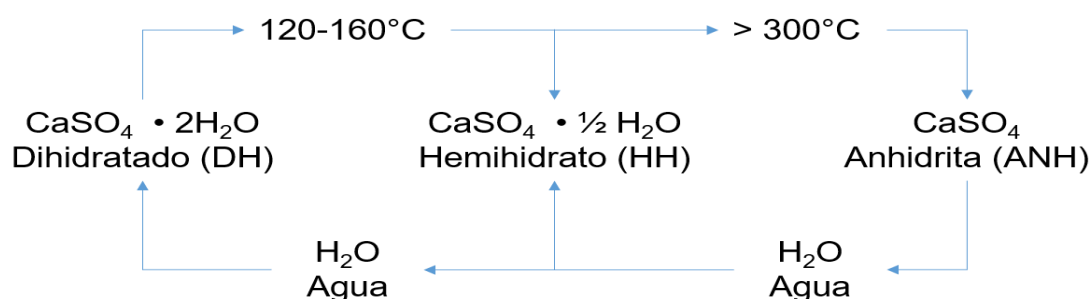


Figura 4. Ciclo y transformaciones de fase del sulfato de calcio [88].

Sin embargo, existen reportes de que la fase ANH no únicamente se obtiene con el uso del sulfato de calcio comercial, sino también usando yeso de desecho a una temperatura de 500°C a una presión estándar [87,88]. La

temperatura a la cual el sulfato de calcio DH se puede transformar a ANH está relacionado con la presión. En un estudio lograron obtener ANH a 200°C en autoclave en un lapso de 4 horas [89]. Para el caso de estudio se utilizó la ANH al calcar yeso comercial a 500° durante 6 h a presión estándar.

Es importante señalar que para favorecer la reacción de hidratación de la ANH es necesario el uso de activadores para poder generar los productos de hidratación [90]. Uno de los activadores más utilizados es el hidróxido de calcio $[\text{Ca}(\text{OH})_2]$ [90–92]. Además, se han utilizado sulfato de potasio (K_2SO_4), sulfato de sodio (Na_2SO_4) y de aluminio $[\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3]$ [90,92]. Estos activadores se adicionan en proporción al peso de la ANH [90–92]. En este proyecto los activadores que fueron utilizados son $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y K_2SO_4 debido a que han presentado buenos resultados en los trabajos antes mencionados.

En general, los sistemas base sulfato de calcio ANH se complementan con otros materiales para mejorar sus propiedades [59]. Existen varios estudios en donde se agrega EAH para mejorar la solubilidad al agua [9,85,92]. La EAH debe ser activada para que se desempeñe como un cementante y por lo general se utiliza el cemento Portland como activador [93]. En este trabajo de investigación el activador de la EAH fue el CPO.

Los porcentajes de sustitución en peso de ANH con respecto a la EAH varían en proporciones de 30-70, 50-50 y 70-30, respectivamente [9]. Además, de trabajos reportados con MC binarias, se han reportado sistemas ternarios con la adición de HS los cuales se han obtenido buenos resultados de estabilidad y propiedades mecánicas [87,92]. En este proyecto de tesis se hicieron sustituciones parciales de 70-24-6 en el sistema de ANH/EAH/HS, las relaciones a/mc fueron de

0.6 y 0.7 como en los sistemas CPO-100, HS/CPO y CH/CV/CPO, así como también el pH fue evaluado a 1, 7, 14, 28, 56 y 91 días de curado.

2.2.5 Medición del pH en Matrices Cementantes

El pH de la MC puede ser evaluado en su estado fresco como en su estado endurecido [16,94]. El método más utilizado para extraer la solución de poro de la MC es la filtración por presión. Además, se ha reportado el método de filtración al vacío [95] en donde se puede evaluar el pH a edades tempranas desde 6 horas de fabricación [94,96]. El valor de pH también puede ser determinado extrayendo la solución de poro utilizando un electrodo o mediante ácidos de titulación [95,96]. Una valoración del pH en su estado fresco permite verificar la calidad de la MC desde su elaboración.

La medición del pH en su estado fresco tiene la ventaja que es una prueba no destructiva. Sin embargo, una desventaja es que en base a su comportamiento, el valor de pH normalmente es predecible a diferencia del concreto endurecido a largo plazo debido al deterioro natural que sufre durante su vida útil [95]. La durabilidad del concreto es de suma importancia, pero el estado del concreto se ve afectado por el cambio de pH.

Se ha estudiado el pH del concreto en su estado endurecido, en la conservación de estructuras y se puede dividir en dos categorías principales: métodos no destructivos y destructivos. Dentro de las pruebas no destructivas se encuentra el método de medición de pH por medio del uso de electrodos de metal / óxido metálico incrustados y por medio de sensores de fibra óptica. Estos métodos

son muy efectivos para el monitoreo en tiempo real de las fluctuaciones del pH en diferentes condiciones [95]. Ya se comentaron algunos métodos no destructivos más utilizados para la valoración del pH de las estructuras.

Una de las pruebas destructivas más utilizadas es por medio de la extracción de la solución del poro. La técnica de extracción de la solución de poro por filtración también es utilizada en su estado endurecido siendo la presión un inconveniente que pudiera afectar el valor de pH de la muestra [97]. Aunque existe una mayor gama de métodos de medición de pH en concreto en su estado endurecido, sin embargo, pueden presentar algunas desventajas.

Otro de los métodos destructivos más utilizado es por medio de molienda de la muestra y su disolución para su posterior medición del pH por medio de electrodos. Sin embargo, variables como la proporción de disolución y temperatura pueden tener un efecto en las mediciones de pH [97]. Por las razones expuestas anteriormente, es importante conocer los alcances de los métodos de medición de pH antes de seleccionar alguno. Es importante considerar que los métodos anteriores ninguno está estandarizado.

2.2.5.1 Medición de la Profundidad de Carbonatación en Matrices Cementantes

La Norma Europea EN 13295 describe un método estandarizado en el cual se utiliza la fenolftaleína para definir la penetración de la profundidad de carbonatación [77]. Este método es cualitativo ya que la fenolftaleína es sólo un indicador de pH [56]. La muestra se tornará de un color magenta cuando los valores de pH sean superiores a 9 e incolora con valores menores a 9 [73]. Sin embargo, la

disminución del pH dentro de los especímenes es mucho más complejo debido a que el ingreso de CO₂ puede ser más profundo que lo que indica la fenolftaleína [98]. Debido a que las muestras del sistema CH/CV/CPO fueron sometidas a carbonatación acelerada, fue evaluada la profundidad de carbonatación considerando la Norma Europea EN 13295.

Dentro de los criterios que deben ser tomados en cuenta en la selección del método de medición del pH son: el propósito, facilidad de las pruebas, rapidez en los resultados y la posibilidad de estudiar los cambios en el pH a lo largo del tiempo [97]. En la presente investigación el monitoreo del cambio de pH de la MC en estado endurecido fue por medio de una prueba destructiva haciendo uso de un electrodo para pH.

2.2.6 La Porosidad Dentro de las Matrices Cementantes

La mayor parte de los materiales de construcción muestran cierto grado de porosidad y rugosidad superficial que son condiciones propicias para la colonización de microorganismos. La porosidad, en conjunto con la rugosidad, generan las condiciones adecuadas para una buena bio-receptividad. La red de poros tiene la función de suministrar agua y la rugosidad retiene los nutrientes [99]. Por lo anterior es que se puede determinar que la interacción de la porosidad y rugosidad están relacionadas con la bio-receptividad de las MC.

En la actualidad se ha venido estudiando la microestructura dentro de diversas MC base cemento Portland debido a su interés primordial en la durabilidad de las estructuras [100]. La porosidad y la permeabilidad son componentes de la microestructura que afectan la durabilidad de las estructuras [101]. La porosidad

está influenciada por el tipo de material cementante, proporción pasta/agregados, tipo y tamaño de los agregados, relación a/mc, así como de la utilización de puzolanas [102–104]. De lo anterior, se puede apreciar que la porosidad es fuertemente influenciada por factores que dependen de las características de los materiales, fabricación y la calidad del concreto.

Los métodos de medición de la porosidad se pueden clasificar en directos e indirectos. En los métodos directos la medición se hace por medio del microscopio petrográfico o con el Microscopio Electrónico de Barrido (MEB). En los métodos indirectos se utilizan los métodos de absorción de manera natural, análisis de superficial por el método de Brunauer, Emmett y Teller (BET) y el más popular el de Porosimetría por Intrusión de Mercurio (PIM) [102]. La diferencia entre los métodos directos e indirectos es que en el primero se realiza la cuantificación de cada uno de los poros que existen en la MC y en el segundo se calculan los vacíos con ayuda de inyección a presión de un líquido o gas.

El método de PIM está regulado por la norma ASTM D 4404 y es uno de los más utilizados [100–102,104,105]. Sin embargo, se debe considerar que la presión puede llegar a dañar a las muestras sobre todo las de base cal [102]. Existe otro método para la medición de la porosidad que consiste en calcular el porcentaje de vacíos que existen dentro de los especímenes regulado por la norma ASTM C 642. Este método ha sido el más utilizado en la medición de la porosidad en la elaboración de materiales bio-receptivos [10–13]. En este proyecto de tesis el método utilizado para la medición de la porosidad de las MC bio-receptivas fue utilizando la norma ASTM C 642 [106], así como la medición del tamaño de poro por medio del método de BET.

2.2.7 La Rugosidad en Materiales Bio-receptivos

La rugosidad es un factor importante para los microorganismos debido a que genera puntos de anclaje, promueve la adherencia al sustrato y asperezas que tienen la función de promover la unión de las microalgas dispersas. La colonización de las microalgas en un sustrato rugoso es más rápida debido a que disminuye el tiempo de latencia y aumenta la tasa de colonización [107]. De lo anterior, se pudiera decir que el acabado de la superficie de la MC es un factor importante para una buena colonización.

T.H. Tran y col. [107] reportaron un estudio en donde se elaboraron especímenes base cemento Portland con acabado especial de liso a más rugoso. Los autores concluyeron que un ligero aumento en la rugosidad puede aumentar abruptamente la susceptibilidad a la colonización por microorganismos. En base a lo anterior, en este proyecto de investigación se dio un acabado a los especímenes por medio de una flota de goma rugosa después de 4h de la fabricación de las muestras.

Se han reportado diferentes métodos para evaluar la rugosidad, sin embargo, ninguno de ellos está estandarizado siendo la técnica más utilizada por medio de un perfilometro [5,11,107,108]. Además, se ha utilizado el rugosímetro portátil [5], así como con un haz de laser a alta presión [5,11,107,108]. En este trabajo de investigación la rugosidad fue evaluada por medio de un perfilómetro sobre las superficies de las MC.

2.2.8 Importancia del Conjunto de las Características Químicas y Físicas Dentro de las Matrices Cementantes para ser Bio-receptivas

T. H. Tran y col. [107] reportaron que es indispensable tener un valor de pH casi neutro y al menos cumplir con alguna de las dos características físicas ya sea porosidad o rugosidad para que sea formada una bio-película. En el caso del estudio de Manso y col. [10–12], los especímenes de CFM presentaron un pH más cercano al neutro en comparación a los de CPO. Los especímenes de CFM fueron más bio-receptivos, debido a que presentaron una rugosidad superior, aunque con menor porosidad con respecto a los de CPO. En la Tabla 2 se muestra la producción de biomasa de mayor a menor cantidad obtenida de un resumen de la literatura científica considerando variables como el pH, porosidad y rugosidad en la colonización de microalgas sobre diversos sustratos.

Tabla 2. Producción de biomasa de microalgas en diferentes sustratos

Material (sustrato)	pH	Porosidad (%)	Rugosidad (μm)	Cuantificación de Biomasa
CFM [10–12]	6.7	2.47	0.06	20 mg/ cm ²
Ladrillos [5]	N/A	38.82	6.49-9.65	14 mg/ cm ²
SCATE [5]	N/A	24.05	13.98	5 mg/ cm ²
Vidrio sodio-cálcico 700°C [13]	9.4	17.8	N/A	0.01109 mg/ cm ²
Vidrio sodio-cálcico 680° C [13]	9.8	33.5	N/A	0.0045 mg/ cm ²
Losetas Nuevas [108]	N/A	1.3	60	5.6 gm-2s-1/2
Losetas envejecidas [108]	N/A	10.8	57.9	7.9 gm-2s-1/2
CPO [10–12]	≈ 9	12.27	0.03	±0.00

De la información listada se puede concluir que solo se requiere un bajo valor de pH y una de las dos propiedades físicas como la rugosidad o porosidad para que la colonización de microalgas se lleve a cabo de manera eficiente.

2.2.9 Cultivo e Inoculación de Microalgas

Algunos investigadores han estudiado la bio-receptividad de materiales de construcción haciendo hincapié en el medio de cultivo para el desarrollo de las microalgas [5,10–13]. El medio de cultivo es aquel que brinda a las microalgas los nutrientes necesarios para su reproducción como su principal fuente de carbono, sales y minerales. Los medios de cultivo más utilizados en la producción de microalgas son el medio Allen (MA), Bold Basal (MBB), Walne (MW) y el Bristol Modificado (MBM) por mencionar algunos [53,109,110]. El medio de cultivo seleccionado para el desarrollo de este proyecto de tesis fue el Bristol Modificado (MBM).

En el desarrollo de las microalgas las variables como el tipo de luz y la cantidad de horas de luz influyen de manera positiva. I. Di Termini y col. reportaron la valoración del crecimiento de microalgas en condiciones naturales de luz solar y de lámpara LED obteniendo buenos resultados en ambos casos [111]. Manso y col. [11] utilizaron un fotoperiodo de 12 h de luz y 12 h de oscuridad para la producción de biomasa de la microalga *C. vulgaris*. La producción de la microalga *Spirulina* ha obtenido buenos resultados utilizando un fotoperiodo de 12 h de luz y 12 h de oscuridad [53]. Con base en lo anterior, en este proyecto de investigación fueron utilizadas lámparas tipo LED y el fotoperiodo en las tres microalgas *C. vulgaris*, *Spirulina* y el *CSC-1* fue de 12 h de luz y 12 de oscuridad.

La temperatura es importante para una óptima producción de microalgas al igual que el tipo de luz y el fotoperiodo. En algunas investigaciones se ha reportado que la temperatura utilizada para el cultivo de microalgas tipo *C. vulgaris* es de 24 a 25 °C [48,50,110–113]. Se ha investigado en diversos estudios la producción de la microalga *Spirulina* a una temperatura superior o igual a 30°C. Sin embargo, se ha logrado producir la microalga *Spirulina* en condiciones naturales, es decir, con luz solar y temperatura ambiente, poniendo especial cuidado en los nutrientes y el pH [14,15,51–53,114]. En este proyecto de tesis fue seleccionada temperatura de producción de 25±2°C para las microalgas *C. vulgaris*, *Spirulina* y el *Csc-1*.

En la Tabla 3 se puede observar un comparativo de las condiciones, utilizadas en pasadas investigaciones para el desarrollo de materiales bio-receptivos, para la producción de biomasa con diferentes tipos de microorganismos.

Tabla 3. Resumen comparativo de las condiciones y tipo de microorganismos utilizados en el desarrollo de materiales bio-receptivos.

Tipo de Microorganismo	Medio de Cultivo	Temperatura (°C)	Fotoperiodo (Horas)	Tipo de Inoculación	Luminaria W o lx	Duración (semanas)	Biomasa (mg/ cm ²)
<i>C. vulgaris</i> [10]	Walne	– 25 L 22 O	12 L 12 O	Goteo	30 W	10	20
<i>Chlorella mirabilis</i> [5]	Bold	24	14 L	Goteo	1500 lx	9	14
<i>Chroococcidiopsis</i> [5]	Basal		10 O				
<i>C. vulgaris</i> [13]	Alga Gro	20 ± 2	12 L 12 O	En contacto con el medio de cultivo	36 W / 6500 lx	5	0.00044

L se refiere al tiempo de luz y O al tiempo de oscuridad

Con base en lo reportado en la literatura se hubiera esperado una mayor producción de biomasa con el MW en comparación al MBB [110]. Sin embargo, los microorganismos utilizados fueron diferentes en ambos medios de cultivo. El

fotoperiodo que utilizaron los investigadores en sus respectivos trabajos es muy similar [5,10–13] y coincide con lo reportado en otros trabajos [53]. Es importante señalar que en la investigación de S. Manso y col., la temperatura fue disminuida en el periodo de luz [10], el cual no es muy frecuente a lo reportado en otras investigaciones [111,112,114]. Por lo anterior, se puede decir que las microalgas tienen una capacidad de adaptación a diferentes condiciones para su producción y desarrollo.

El tipo de inoculación sobre los materiales bio-receptivos, tiene una influencia sobre la producción de biomasa en ellos [115]. En este proyecto de tesis se hicieron pruebas preliminares con la finalidad de seleccionar el método de inoculación más óptimo entre goteo y contacto con el medio. En el capítulo 3 correspondiente a la metodología se describe con detalle los métodos de inoculación utilizados en este proyecto de tesis.

2.2.10 Estudio del Crecimiento y Desarrollo de las Microalgas

Algunos investigadores han reportado que el crecimiento de las microalgas en cultivos consta entre tres y cinco etapas. Primeramente, existe un periodo de Incubación en donde el crecimiento es lento seguido de un período exponencial debido a la frecuente división celular. El periodo de maduración se puede caracterizar porque es estacionario y relativamente decreciente debido a que la división celular se ralentiza por la falta de recursos necesarios para el crecimiento. Las células comienzan a morir a la falta de recursos suficientes [116–119] y pudiera

esperarse que hasta en condiciones ideales las células lleguen a morir después de su desarrollo.

Una de las herramientas utilizadas para evaluar las diferentes variables involucradas en el desarrollo de las microalgas es por medio de micrografías obtenidas por microscopía óptica o con ayuda del MEB. Siti Nor Ani Azaman y col. reportaron por medio de micrografías diversos cambios en la morfología de la *Chlorella* cuando se desarrolla en condiciones mixotróficas o fototróficas [120]. Beata Żyszka y col. analizaron los cambios de la morfología y desarrollo de la microalga *Spirulina* por medio de micrografías para evaluar el efecto de la adición de diferentes micro molaridades de una solución cítrica natural (naringenina) [121]. En este proyecto de investigación fue evaluado por medio de MEB el desarrollo y/o cambios en la morfología de la bió-película a 1,3 y 5 semanas de las microalgas *C. vulgaris*, *Spirulina* y el *Csc-1* sobre los sistemas CPO-100, HS/CPO, CH/CV/CPO y ANH/EAH/HS.

CAPÍTULO 3

3. Metodología Experimental

3.1 Diseño Experimental

La experimentación fue realizada en dos etapas y la primera etapa estuvo enfocada en la fabricación de las MC y la segunda en el cultivo de microalgas. En la Figura 5 se muestra el arreglo experimental que fue desarrollado para dar cumplimiento a cada uno de los objetivos trazados en este proyecto de tesis.

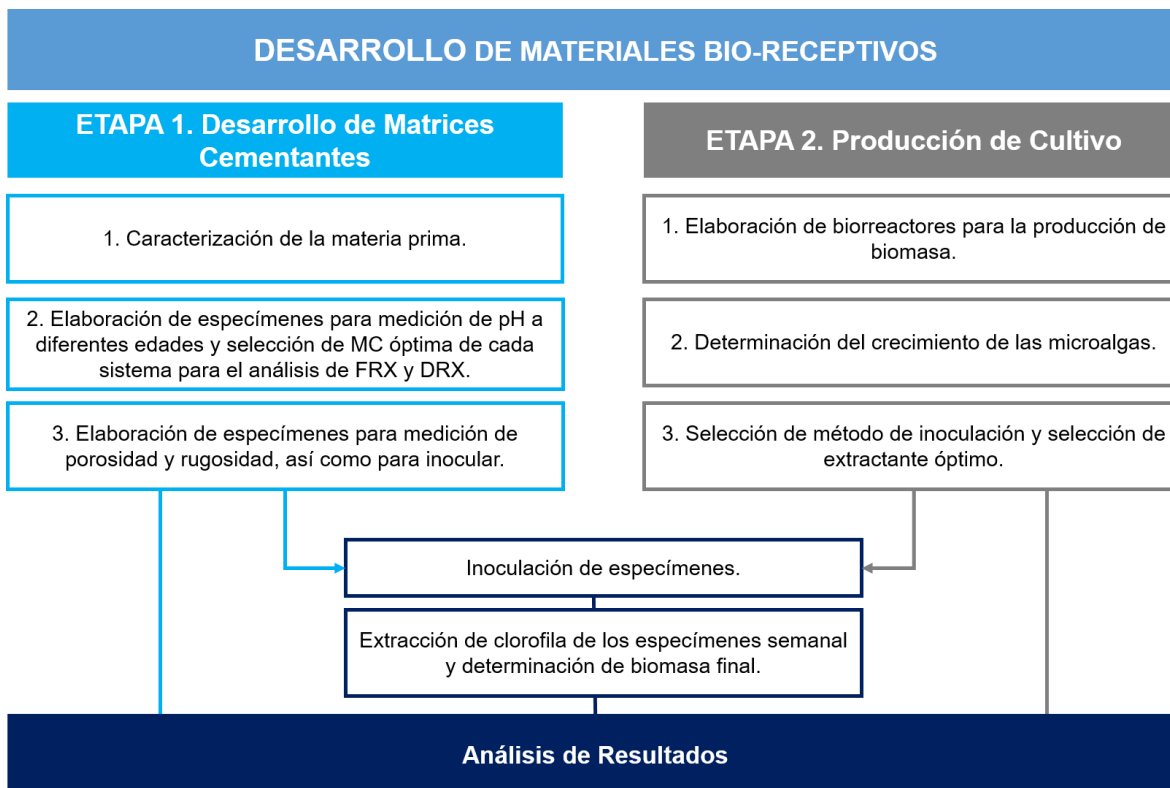


Figura 5. Arreglo experimental para el desarrollo de materiales bio-receptivos.

3.2 Desarrollo de Matrices Cementantes

3.2.1 Descripción y Normativa de la Materia Prima

A continuación, se describe la normativa que debe cumplir la materia prima utilizada en este proyecto de investigación en cuanto a su fabricación y rangos de concentración de elementos presentes en ella.

3.2.1.1 Cemento Portland Ordinario (CPO)

El Cemento Portland Ordinario CPO 40 utilizado fue de la marca Cemex y en base a la Norma ASTM C150-12 el trióxido de azufre (SO_3) no debe de ser mayor al 3.0% e.p. [122].

3.2.1.2 Humo de Sílice (HS)

El HS de Norchem y en base a la ficha técnica proporcionada por el proveedor, indica que su composición química es de un 94% de óxido de silicio (SiO_2) [123]. La Norma ASTM C1240 [124] menciona que la concentración de SiO_2 debe de ser un mínimo de 85% e.p. [124].

3.2.1.3 Cal Hidratada (CH)

La CH del grupo Calidra de la línea Piracal, de acuerdo a la ficha técnica está constituida aproximadamente de un 86% de hidróxido de calcio [$\text{Ca}(\text{OH})_2$] y con concentraciones aproximadas al 1% de óxido de magnesio (MgO), óxido de azufre (SO_3) y óxido de silicio (SiO_2) [125].

3.2.1.4 Ceniza Volante (CV)

La CV proviene de la Carboeléctrica José López Portillo ubicada en el estado de Coahuila [126] y en base a la Norma ASTM C618-12 la CV se puede clasificar en tipo C, F y N. La CV para que sea considerada tipo F su composición química debe cumplir que la suma de óxido de silicio (SiO_2), óxido de aluminio (Al_2O_3) y óxido de hierro (Fe_2O_3) debe ser mayor al 70 % e.p [127].

3.2.1.5 Anhidrita (ANH)

El hemidrato sulfato de calcio HH ($\text{CaSO}_4 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$) se obtuvo de Yesera Monterrey línea Yeso Máximo, de acuerdo con la ficha técnica del fabricante debe cumplir con la norma ASTM C471 para su fabricación [128,129]. Es importante mencionar que para obtener la fase anhidra del sulfato de calcio fue calcinado en una mufla a una temperatura de 500°C durante un periodo de seis horas.

3.2.1.6 Escoria de Alto Horno (EAH)

La EAH es un sub-producto de la industria acerera de Lázaro Cárdenas, Michoacán. La morfología de la EAH es de tipo granular y se le dio tratamiento de molienda mecánica durante 4 h por medio de un molino de bolas de tipo vibratorio con una capacidad de 60 kilos de bolas metálicas durante 4 h. Para conocer si es conveniente utilizar la EAH como material cementante es de suma importancia calcular el índice hidraulicidad (F) y basicidad (P), los cuales se determinan en base a la composición química de la EAH [69]. El índice de basicidad (P) debe ser $P > 1$ y se puede obtener con la Ecuación 2 [130]:

$$P = \frac{C+M}{S+A} \quad (2)$$

El índice de hidraulicidad (F) debe de ser $F > 1.4$ y se puede obtener con la Ecuación 3 [130]:

$$F = \frac{C+M+A}{S} \quad (3)$$

En donde C es el contenido de Calcio (% e.p.), M es el contenido de Magnesio (% e.p.), S es el contenido de Silicio (% e.p.) y A es el contenido de Aluminio (% e.p.).

3.2.1.7 Aditivos

Se utilizaron aditivos en los sistemas HS/CPO y ANH/EAH/HS los cuales se describen a continuación:

En el desarrollo de las MC del sistema HS/CPO fue utilizado el aditivo Viscocrete 7800 (S-7800) de SIKA base policarboxilatos de cuarta generación [55,131] para mejorar su trabajabilidad. La dosificación utilizada del súperplastificante fue siguiendo las indicaciones de la ficha técnica que corresponde

a un 0.4 % del peso del cemento. El uso de este aditivo fue por recomendación del proveedor debido al contenido bajo de cemento en el sistema HS/CPO, debido a que fue 70% HS y 30% CPO.

Por otro lado, los activadores para la ANH fueron el hidróxido de calcio $[\text{Ca}(\text{OH})_2]$ (HC) y el sulfato de potasio (K_2SO_4) (KS). El HC fue de grupo Calidra descrito con anterioridad. El KS de grado reactivo Jalmeq, con una pureza del 99%. Para la Activación de la EAH fue utilizado el cemento CPO 40 CEMEX (CMX) descrito anteriormente.

3.2.1.8 Agregado Fino

La arena sílica 20-40 procedente de la región de Nuevo León y debido a que el agregado fino no era estandarizado, fue analizado en cuanto a su contenido de materia orgánica de acuerdo a la norma ASTM C40 [132].

En la Figura 6 se muestran los resultados del contenido de materia orgánica de la arena sílica según la Norma ASTM C40 [132]. En la Figura 6 A) se observa la arena sílica después de la agitación. En la Figura 6 B) se observa la arena sílica sedimentada después de un reposo de 24 hrs. Posteriormente, se hizo la comparación del color de la solución acuosa con los colores del patrón determinando que la coloración se encontraba entre el cristal 1 y 2. De lo anterior, se pudo concluir que la arena podía utilizarse para elaborar morteros debido a la ausencia de materia orgánica.

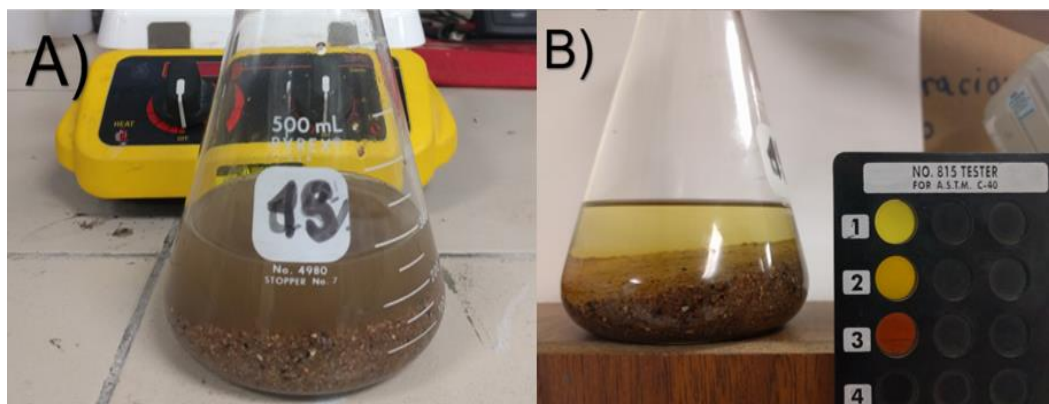


Figura 6. Prueba de contenido orgánico en el agregado fino de acuerdo a la Norma ASTM C40 [132].

3.2.2 Técnicas de Caracterización de la Materia Prima y de los Especímenes

La primera actividad previo al desarrollo de las MC bio-receptivas fue la caracterización de la materia prima. Los materiales cementantes (CPO, HS, CH, CV, ANH y EAH) y el agregado fino (arena sílica) fueron analizados vía química elemental base óxidos por medio de la técnica de Fluorescencia de Rayos X (FRX) y las fases cristalinas fueron identificadas por medio de la técnica de análisis por Difracción de Rayos X (DRX). Además, se obtuvo la densidad de los materiales por medio de un Picnómetro de gas para hacer el proporcionamiento de las mezclas. Los especímenes se analizaron con diferentes técnicas para determinar la evolución de su pH por medio de un electrodo de pH, el tamaño de poro fue analizado con el método de Brunauer, Emmett y Teller (BET) y la rugosidad con ayuda de un perfilómetro. El análisis de Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) fue utilizado para observar de la morfología de la bio-película.

3.2.2.1 Fluorescencia de Rayos X (FRX)

La espectroscopía de FRX utiliza radiación primaria generada de un tubo de rayos X que incide sobre la muestra para excitar los electrones y generar rayos X secundarios (fluorescencia) [133]. De la radiación procedente de la muestra se forman los picos de rayos X característicos de cada uno de los elementos mayores presentes en la muestra y poder determinar su composición química en porcentaje en masa o ppm [134]. En la Figura 7 se muestra un arreglo del principio físico de la técnica de FRX.

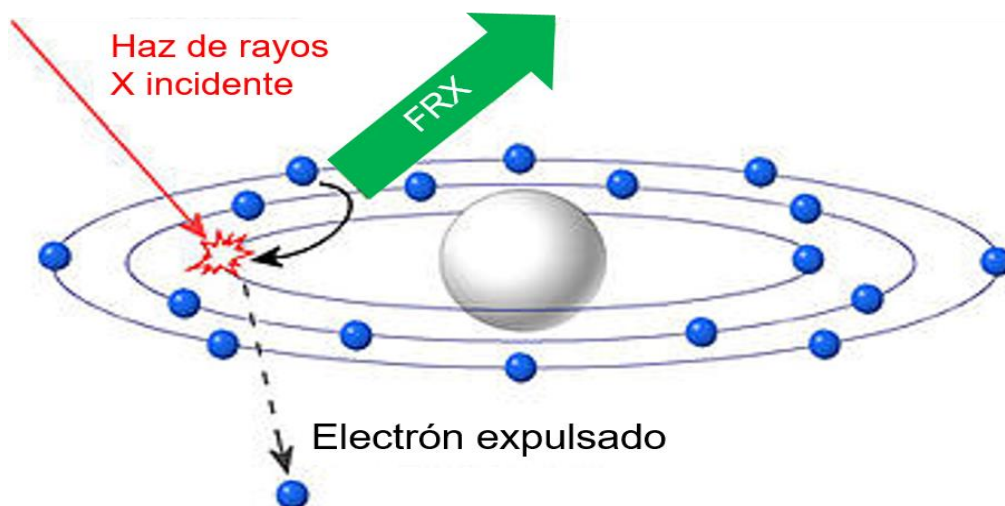


Figura 7. Principio Físico de la técnica de FRX [134].

El equipo de FRX utilizado en el análisis químico de la materia prima y la evolución de los elementos alcalinos a diferentes edades fue en un equipo EPSILON 3-XL de PANAlitycal y la información fue interpretada por medio del software EPSILON 3.

3.2.2.2 Difracción de Rayos X (DRX)

La DRX se utiliza para identificación de fases presentes y estudios de estructura cristalina [135]. En la Figura 8 se presenta el principio físico de la DRX

La identificación de fases fue realizada con el programa High Score Plus. La base de datos utilizada en la identificación de fases es de la ICDD.

3.2.2.3 Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

El principio físico del MEB se puede observar en la Figura 9, en donde un haz de electrones es dirigido a través de una columna al vacío y enfocado sobre un pequeño punto de la muestra. Los electrones con un ángulo pequeño de dispersión interactúan con la topografía de la superficie y generan una dispersión de electrones secundarios que producen una señal electrónica (imagen) con una profundidad de campo de aproximadamente unas 300 veces superior a la del microscopio óptico (sobre 10 μm a 10 000 diámetros de aumento) [137].

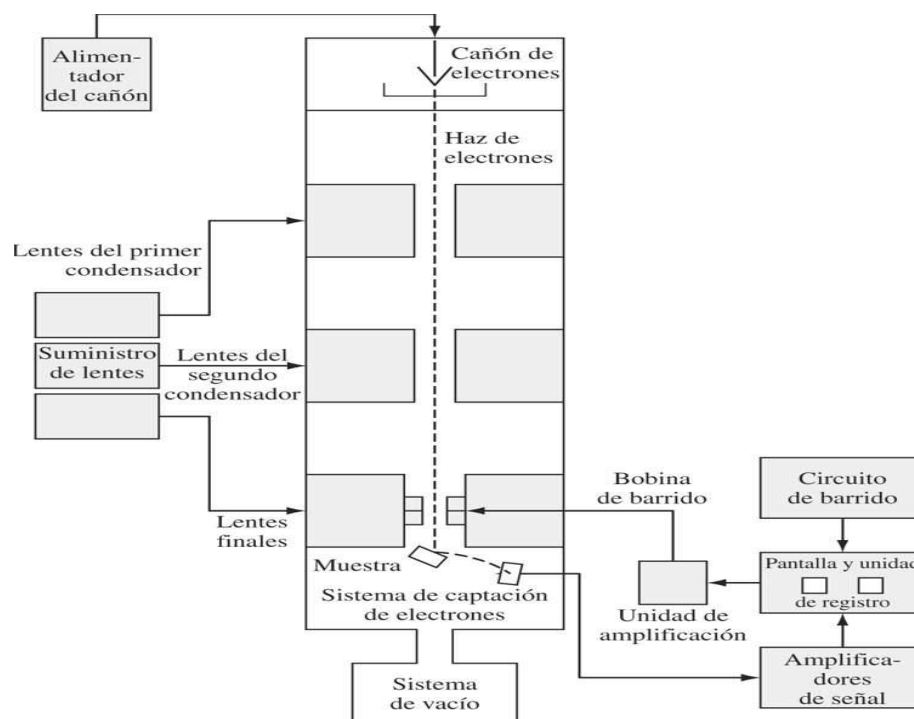


Figura 9. Diseño básico de un microscopio electrónico de barrido [137].

En este proyecto de investigación se tomaron micrografías de los especímenes inoculados por las tres microalgas de cada uno de los sistemas

estudiados. Las micrografías fueron tomadas con un voltaje de aceleración de 20KV, spot size de 60, distancia de trabajo de 15 mm a una magnificación 1000x en la señal de electrones secundarios. El MEB utilizado fue de la marca JEOL modelo JSM-6510LV y el software para visualizar las micrografías es SEM Main.

3.2.2.4 Picnómetro de Gas

Los picnómetros automáticos de gas se utilizan para medir la densidad de los materiales sólidos al emplear el principio de desplazamiento de fluidos de Arquímedes y la Ley de expansión de gases de Boyle. En la Figura 10 se muestra una cámara porta muestra sellada de volumen conocido a una presión objetivo con el gas de desplazamiento[138]. Una vez estabilizado el sistema, se registra esta presión y posteriormente se abre una válvula que permite que el gas se expanda hacia una cámara de referencia de volumen conocido.

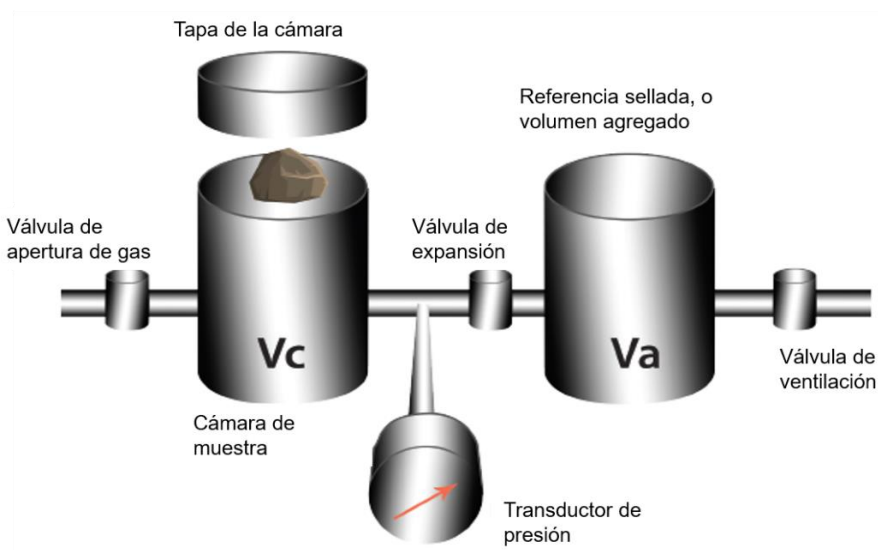


Figura 10. Diagrama de operación de un picnómetro de gas [138].

Una vez estabilizado, se registra esta segunda presión. Esta relación de caída de presión es comparada con el comportamiento del sistema cuando un estándar de volumen conocido es sometido al mismo proceso. Debido a que la

medición depende solo de las relaciones de caída de presión, no es necesario calibrar los transductores de presión [138]. El picnómetro que se utilizó en esta investigación fue de la marca Quantachrome Instruments modelo Multi Pycnometer pentapyc 5200ex con gas de Nitrógeno y con la celda 'small'.

3.2.2.5 Electrodo para Medición del Valor de pH

El electrodo de vidrio es la pieza fundamental en la medición del valor de pH. La varilla de soporte del electrodo es de vidrio común o plástico y tiene la característica de no ser conductor de cargas eléctricas. El bulbo sensible del electrodo es de un vidrio conocido como “vidrio sensible al pH”, el cual es vidrio polarizable y conductor de cargas eléctricas [139].

En la Figura 11 se muestra la estructura del vidrio que permite el intercambio de iones litio por iones de hidrógeno en solución acuosa formándose una capa hidratada mediante una diferencia de potencial entre el vidrio y la solución. El voltaje hacia el interior del bulbo es constante debido a que se mantiene su pH (mediante una solución buffer de pH 7) de modo que la diferencia de potencial depende solo del pH del medio externo. La incorporación de un alambre (usualmente de Ag/AgCl) permite conducir este potencial hasta un amplificador [139]. El electrodo con el que fue avaluado el pH es modelo AP110 de Fisher Scientific.

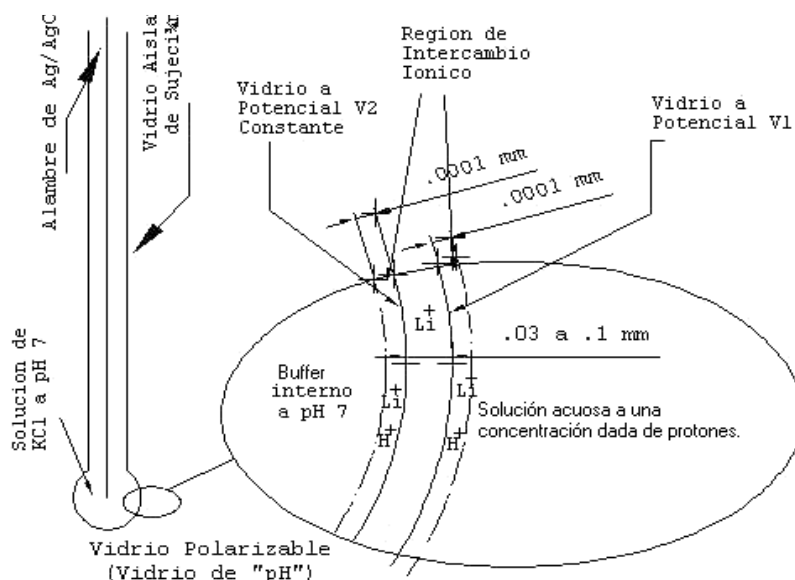


Figura 11. Vista general del electrodo de vidrio y membrana intercambiadora de iones [139].

3.2.2.6 Método de Brunauer, Emmett y Teller (BET)

Uno de los métodos más utilizados para caracterizar el área superficial es por análisis BET en honor de los investigadores Stephen Brunauer, Paul Hugh Emmett y Edward Teller. El análisis BET permite que las mediciones del fenómeno de adsorción se puedan correlacionar con las propiedades físicas de un material, como el área de superficie total, análisis de microporos, distribución y tamaño de poro [140].

El método BET se basa en el cálculo del número de moléculas de adsorbato, en este caso de nitrógeno, adsorbidas en monocapa; es decir, el número de moléculas necesarias para cubrir la pared del sólido con una única capa. La adsorción BET asume que la superficie del material es homogénea y que la adsorción se produce por igual en toda la superficie sin sitios de sorción

preferenciales. Es importante mencionar que cada sitio de adsorción puede estar ocupado con una única molécula de adsorbato o desocupado. De las suposiciones anteriores, la adsorción se puede modelar para cada capa adsorbida usando la ecuación de Arrhenius para determinar la cinética de adsorción/desorción basadas en la fracción de cobertura de la superficie. La ecuación BET generalizada para la adsorción de gas se puede describir como se muestra en la Ecuación 4 [140]:

$$v = \frac{v_m c p}{(p_o - p) [1 + (c - 1) \left(\frac{p}{p_o} \right)]} \quad (4)$$

De donde v es el volumen de gas adsorbido, v_m es el volumen de monocapa adsorbido, p es la presión de gas de equilibrio, p_o es la presión de saturación y c es la constante BET. El área de superficie específica (S , área de superficie por unidad de masa) se puede encontrar por la Ecuación 5 [140]:

$$S = \frac{v_m N A}{22,400 \times m} \quad (5)$$

La constante N es el número de Avogadro (número de moléculas por mol), A es el área de la superficie de la sección transversal de una sola molécula de gas adsorbido, m es la masa y 22,400 representa la temperatura y presión estándar [140].

3.2.2.7 Perfilómetro

Su propósito es evaluar la morfología y rugosidad de la superficie. Los perfilómetros constan de al menos dos partes: un detector y un muestreador. El detector determina dónde están localizados los puntos en la muestra y el muestreador contiene la muestra [141].

Hay dos tipos de perfilómetros el de lápiz y óptico, pero en la presente investigación se trabajó con uno de lápiz. En la Figura 12 se muestra un perfilómetro de lápiz, el cual utiliza una sonda para detectar la superficie que se mueve de forma mecánica a lo largo de la superficie para obtener la altura [141]. Los cambios en la posición Z del soporte del brazo se pueden utilizar para reconstruir la superficie [141]. De los sistemas CPO-100, HS/CPO, CH/CV/CPO y ANH/EAH/HS, se hizo el análisis de la rugosidad de la superficie en una muestra tomando lectura en 10 puntos diferentes y el valor de la rugosidad fue obtenido con la media de los valores obtenidos.

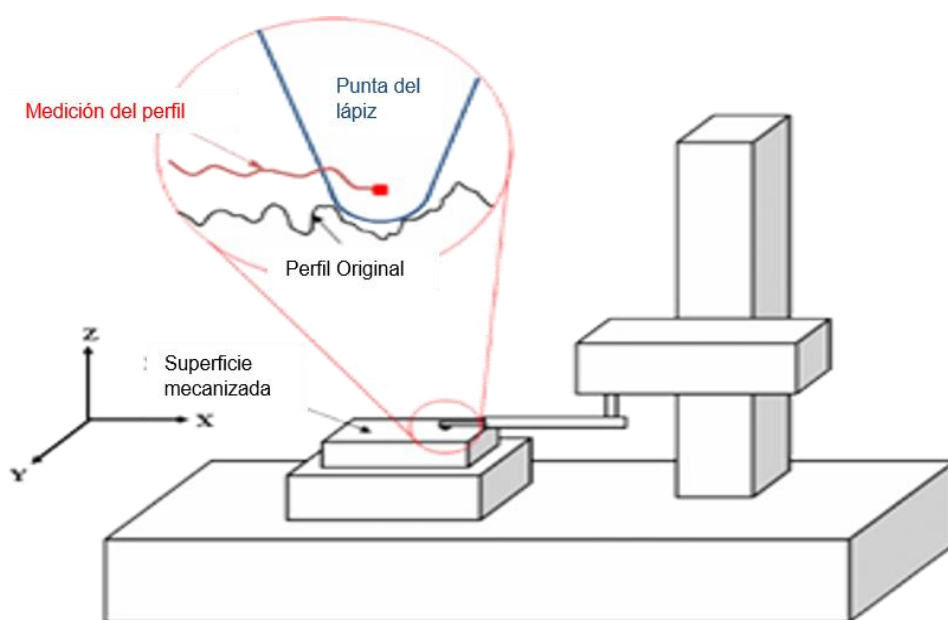


Figura 12. Perfilómetro de lápiz [141].

3.2.3 Elaboración de los Especímenes

La fabricación de los especímenes para los sistemas CPO-100, HS/CPO, ANH/EAH/HS y CH/CV/CPO fueron de mortero y de forma cúbica con una dimensión de 50x50x50mm considerando la norma ASTM C109 para el mezclado

[140]. En la Figura 13 se puede observar los porcentajes de sustitución de cada uno de los sistemas estudiados.

Matriz Cementante	Materiales Cementantes	Porcentaje de Sustitución (%)	Relación A/MC	Días de Ensaye
CPO-100	CPO	100	0.6	1
			0.7	
HS/CPO	HS	70	0.6	7
	CPO	30	0.7	14
				28
				56
ANH/EAH	ANH	70	0.6	90
	EAH	24		
	HS	6	0.7	
CH/CV/CPO	CH	50	0.6	5
	CV	25	0.7	10
				15
	CPO	25		20

Figura 13. Matriz experimental del diseño de mezclas

El desmolde de los especímenes fue 24 ± 4 hrs después de su elaboración para su posterior curado que fue realizado bajo las siguientes condiciones de humedad relativa (HR) del $95 \pm 5\%$ a una temperatura de $23 \pm 2^\circ\text{C}$. En el caso de los especímenes de los sistemas CPO-100, HS/CPO y ANH/EAH/HS continuaron en condiciones de curado hasta determinar su valor de pH el día correspondiente. Recordando que los especímenes de sistema CH/CV/CPO se sometieron a curado únicamente durante 7 días. Los especímenes de todos los sistemas que se utilizaron para inocular y para la medición de la rugosidad se les dieron un acabado en la superficie por medio de una flota de goma rugosa después de 4 h del vaciado.

Las muestras del sistema CH/CV/CPO después de siete días de curado fueron sometidas a secado en horno a una temperatura de $110 \pm 5^{\circ}\text{C}$ durante un periodo de 6 horas, para posteriormente ser ingresadas a la cámara de carbonatación. Las condiciones en la cámara de carbonatación fueron a una concentración del 20% de CO_2 , HR de $60 \pm 10\%$ y una temperatura de $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Una vez terminado el tiempo de carbonatación de los especímenes a 5,10,15 o 20 días se les hizo la prueba de profundidad de carbonatación de acuerdo a la norma EN 13295 [77].

3.3 Evaluación de pH en los Especímenes

Para la medición del pH fue necesario hacer molienda de los especímenes que previamente habían sido secados y cortados. Una vez que los especímenes habían sido curados o carbonatados se ingresaron tres muestras (por edad) de cada sistema a un horno durante 6 h a una temperatura de $110 \pm 5^{\circ}\text{C}$. Posteriormente, se cortó una cara de los especímenes para obtener una pieza de 5 mm de espesor con ayuda de un esmeril con disco diamante. La pieza obtenida fue fracturada en piezas más pequeñas para poder ser ingresadas a un tazón de un molino Modelo Herzog PM4H-M de Panasonic para ser pulverizadas durante 2 minutos. Cabe mencionar que el resto de cada uno de los cubos fue almacenado para después someterlos a las pruebas de caracterización en caso que resultarán ser la MC óptima.

Con base en lo anterior, en un frasco fueron añadidos 3 g del espécimen previamente molido en 30 g de agua destilada sobre una parrilla electromagnética

marca Thermo Scientific con agitación constante a velocidad 3. Previo a la medición de pH, fue elaborada la curva de calibración del electrodo de pH con los buffers 4, 7 y 10 considerando el contenido de la solución de cloruro de potasio (KCl) del electrodo. Posteriormente, fue introducido el electrodo en la solución agua-especimen molido para registrar el valor de pH. Es importante mencionar que se hicieron tres mediciones y se obtuvo la media aritmética. Los valores de pH obtenidos fueron utilizados para graficar curvas de tiempo (edad o carbonatación) vs valor de pH de los sistemas cementantes de este estudio. La MC óptima fue seleccionada de aquella con valores de pH más bajo.

Al identificar la MC óptima de cada sistema se hicieron nuevos especímenes para inocular y para medir sus propiedades físicas. Para ello se repitieron las mismas condiciones de fabricación de acuerdo a la norma ASTM C109 [142]. Estos especímenes fueron sometidos a las mismas condiciones de tiempo de curado para los sistemas CPO-100, HS/CPO, ANH/EAH/HS y carbonatación para el sistema CH/CV/CPO.

3.4 Proporcionamiento de las Matrices Cementantes

Con la finalidad de analizar las características químicas y físicas de los especímenes de los sistemas CPO-100, HS/CPO, ANH/EAH/HS y CH/CV/CPO fue evaluada la densidad de cada uno de los materiales para después realizar el proporcionamiento. En la Tabla 4 se muestran las densidades promedio obtenidas de tres lecturas en cada una de los materiales utilizados en este proyecto de tesis.

Tabla 4. Densidad (ρ) de la materia prima.

MATERIAL	ρ (g/cm ³)
HS	2.21
CH	2.43
CV	2.04
ANH	2.61
EAH	2.84
Agregado fino	2.66

Una vez que fue determinada la densidad y al tener el conocimiento que el agregado fino estaba libre de materia orgánica, se procedió con el diseño de las mezclas el cual se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5. Proporcionamiento de las MC.

Sistemas				
Material (g)	Relación a/mc 0.6			
	CPO-100	HS/CPO	CH/CV/CPO	ANH/EAH
CPO	510	153	127.5	-
HS	-	357	-	30.6
CH	-	-	255	-
CV	-	-	125.5	-
ANH	-	-	-	357
EAH	-	-	-	122.4
Arena	1312.13	1196.05	1205.10	1208.75
Agua	306	306	306	306
Aditivos / Activadores (g)				
S-7800	-	6.12	-	-
HC	-	-	-	14.28
KS	-	-	-	10.71
CMX	-	-	-	12.24
Sistemas				
Material (g)	Relación a/mc 0.7			
	CPO-100	HS/CPO	CH/CV/CPO	ANH/EAH
CPO	510	153	127.5	-
HS	-	357	-	30.6
CH	-	-	255	-
CV	-	-	127.5	-
ANH	-	-	-	357
EAH	-	-	-	122.4
Arena	1176.54	1060.46	1069.52	1073.17

Agua	357	357	357	357
Aditivos / Activadores (g)				
S-7800	-	6.12	-	-
HC	-	-	-	14.28
KS	-	-	-	10.71
CMX	-	-	-	12.24

El diseño de las mezclas fue realizado para un volumen de 6 cubos considerando un porcentaje de desperdicio. La compactación se hizo conforme a lo establecido en la Norma ASTM C109 [142]. Sin embargo, en la compactación de los especímenes del sistema ANH/EAH/HS fue utilizada la mesa de fluidez girando la palanca 20 veces durante 15 segundos por cada capa de vaciado y en total fueron dos capas.

3.5 Preparación de las Muestras para el Análisis de FRX, DRX y MEB

La preparación de las muestras para su análisis por FRX y DRX fue realizado básicamente en tres pasos como es el secado, corte y pulverizado. Se hizo el análisis de un espécimen por edad de cada uno de los cuatro sistemas aquí estudiados el cual fue seleccionado al azar de los que estaban almacenados.

El secado de los especímenes fue realizado en un horno de Quincy Lab a una temperatura de $105 \pm 5^{\circ}\text{C}$ durante 6 h. Posteriormente, se hizo un corte de 50x50x5 mm en una cara del espécimen con un disco de diamante para después ser guardada en un desecador previo a su molienda. Las condiciones de molienda fueron las mismas utilizadas en la determinación del valor de pH.

Para el análisis por FRX fue necesario elaborar pastillas con una prensa hidráulica marca SPECAC modelo Atlas Power T25. Para ello, se adicionaron 10 g

en un vaso de precipitado de cada espécimen previamente molido y fueron mezclados con 1 g de cera cereox hasta homogenizar. La mezcla fue vaciada en un molde de aluminio de forma cilíndrica de una sección de 40mm de diámetro y 8mm de alto y sometido a una presión de 10 ton durante 1 minuto. Una vez que se obtenía la pastilla de cada uno de los especímenes fueron analizados por la técnica FRX. Para el estudio del análisis DRX fueron utilizados 5g del material previamente molido (sin la cera) y se procedía a su estudio.

El análisis MEB fue realizado para muestras inoculadas con la finalidad de evaluar la formación de la bio-película sobre su superficie. La preparación de las muestras consistía en cortar a los especímenes ya inoculados hasta obtener una sección de 50x50x5mm. Se fracturaban nuevamente para obtener una pieza menor a 10x10x5mm aproximadamente. Para detener la hidratación la muestra fue colocada en un crisol con alcohol etílico (C_2H_5OH) reactivo al 100% suficiente para cubrirla. Por último, las muestras eran puestas dentro de un horno Quincy Lab a una temperatura de $40 \pm 3^\circ C$ durante 48 hrs para su secado.

Con la finalidad de hacer las muestras conductoras y facilitar su análisis en el MEB, fue necesario recubrir las con una película de oro-paladio por medio de una recubridora marca Denton Vacuum modelo Desk V hasta 0.05 torr para generar vacío. Una vez que fueron recubiertas las muestras, se almacenaban en el desecador hasta que se procedía a observarlas en el MEB.

3.6 Producción de Cultivo de las Microalgas *C. vulgaris*, *Spirulina* y el Consorcio de Microalgas 1 (Csc-1)

Las microalgas *C. vulgaris* y *Spirulina* fueron obtenidas del cepario del Instituto de Biotecnología de la Universidad Autónoma de Nuevo León y son producto de una recolección, aislamiento y reconocimiento de diversas microalgas endémicas del estado de Nuevo León. La muestra del Csc-1 fue obtenida de una estructura con condiciones de pH similares a los sistemas desarrollados en este proyecto de investigación sin aislamiento.

3.6.1 Arreglo Experimental de Biorreactores

Para la elaboración de los biorreactores fueron necesarios tres envases de PET de 10 litros (uno por microalga) y antes de su uso fueron esterilizados con alcohol etílico al 70%, así como con ayuda de una cámara de luz UV por 15 minutos. En la Figura 14 se muestra el arreglo experimental de los biorreactores y en donde se puede observar que en la parte superior de la tapa en cada envase fueron realizados tres agujeros de 5mm de diámetro aproximadamente.



Figura 14. Arreglo experimental de los biorreactores.

Un agujero tuvo la función de respiradero y se le introdujo una manguera de acuario de 5mm de diámetro y 5 cm de largo sellado con una torunda de algodón en el extremo que daba al exterior. En el segundo agujero fue ubicada una manguera de 20 cm de largo que fue conectada a un catéter sin aguja que a su vez se conectaba a una jeringa de 5ml para la toma de muestras. En el último agujero fue colocada una manguera sin tocar fondo que lleva un disipador de aire colgado y conectaba a la bomba aireadora de acuario, con el fin de suministrar CO₂ a las microalgas. Para los biorreactores *C. vulgaris* y la *Spirulina* se adicionaron 40 ml de inóculo de cada cepa y para el caso del *Csc-1* únicamente se tomaron 40 ml de la muestra original hasta aforar a 9 litros de medio Bristol.

3.6.2 Preparación de Medio Bristol

Para la preparación de 1 litro de medio Bristol fue necesario 0.25 g de nitrato de sodio (NaNO₂), 0.025 g de cloruro de calcio dihidratado (CaCl₂•2H₂O), 0.075 g de sulfato de magnesio heptahidratado (MgSO₄•7H₂O), 0.075 g de fosfato dipotásico (K₂HPO₄), 0.175 g de fosfato monopotásico (KH₂PO₄) y 0.025 g de cloruro de sodio (NaCl). Lo anterior fue mezclado en un matraz de fondo plano de 1 L y se aforaba con agua destilada hasta los 1000ml. En el caso del medio de cultivo para la *Spirulina* fue adicionado 0.5 g de carbonato de sodio anhidro (Na₂CO₃) para poder generar un pH ≈ 10 óptimo de crecimiento.

Después de la aforación con la mezcla de reactivos, el matraz era agitado vigorosamente de manera manual hasta disolver todas las sales minerales y por último la boca del matraz fue sellada con una torunda de algodón. Para poder

estilizar el medio Bristol, los matraces se introdujeron en una autoclave a una temperatura de 121°C a una presión de 15 libras por 15 minutos. Una vez que los matraces alcanzaban la temperatura ambiente, se hacia el vaciado del medio Bristol a los biorreactores.

3.6.3 Evaluación del Desarrollo de las Microalgas *C. vulgaris*, *Spirulina* y el Consorcio de Microalgas 1 (Csc-1)

Existen dos principales métodos para determinar el desarrollo de las microalgas que son el directo (conteo directo de número de células) y el indirecto (densidad óptica). El uso de cada uno de ellos depende de la morfología de las microalgas, ya que si son células de forma esféricas o similar es el directo y de lo contrario es con el método indirecto [143]. Para el caso de la microalga *C. vulgaris* fue utilizado el método directo haciendo uso del microscopio óptico en conjunto con la cámara de Neubauer [144] y para la microalga *Spirulina* fue utilizando un método indirecto tomado en cuenta la densidad óptica que fue determinada con un espectrofotómetro [145]. El conteo del Csc-1 se planificó con el método directo.

Para dar seguimiento al crecimiento de las microalgas fueron tomadas 3 muestras cada 4 días de cada biorreactor desde el día 0 hasta el día 60 por cada microalga. Para lo anterior, se extraía 1ml de biomasa con ayuda de la jeringa ubicada en el biorreactor de cada microalga y vaciada en un tubo Eppendorf. Se realizaba la toma de las tres muestras y se daba lectura con su respectivo método. El valor de la cuantificación se obtenía por medio de la media aritmética y con ello se pudo generar la curva de crecimiento de cada microalga.

3.6.3.1 Cuantificación del Crecimiento con Cámara de Neubauer

La Cámara de Neubauer se compone de dos superficies elevadas con la forma de un cuadrado de 3 mm x 3 mm (área total de 9 mm²) separados por un foso en forma de H. En la Figura 15 se muestra el cuadrado grande formado por nueve cuadrados de 1x1 mm y cada uno de los cuadrados se divide en 16 cuadrados con el cuadrado central subdividido en 25 cuadros más pequeños. Un cubreobjetos se coloca encima de las superficies de conteo [146].

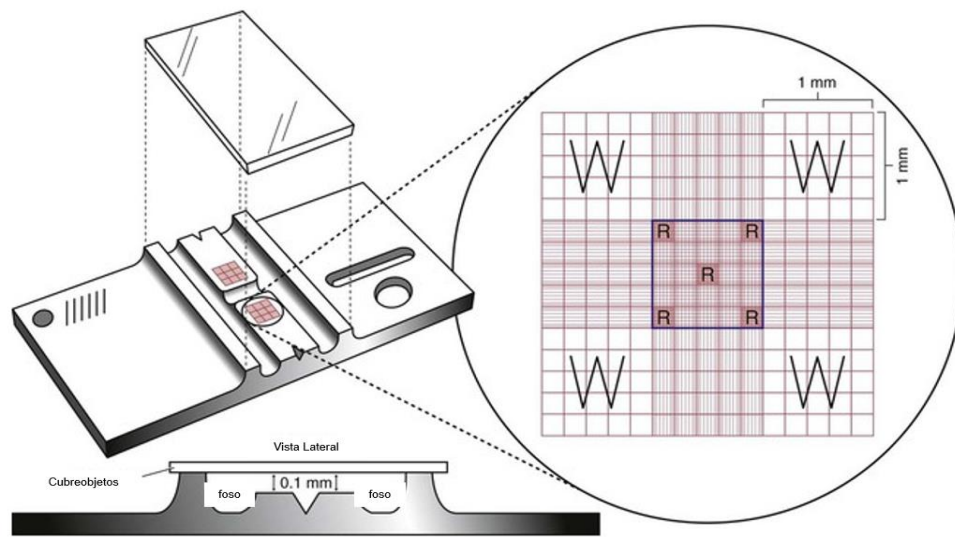


Figura 15. Vista superior en primer plano de las áreas de conteo [146].

En la Figura 16 A) se muestra el área de conteo (uno de los cuadros grandes) a una magnificación de 10X. Se presentan celdas más pequeñas numeradas del 1 al 25. En la Figura 16 B) se observa una de esas celdas a una magnificación de 40x, donde se ejemplifica la ubicación de las células de una muestra cualquiera en esa celda. Es importante señalar que solo fueron contabilizadas las microalgas en verde y no las de color rojo. Las celdas con el número 1, 5, 15, 21 y 25 fueron

consideradas para el conteo de las células [147]. El microscopio óptico utilizado en la cuantificación de las microalgas fue de la marca Leica.

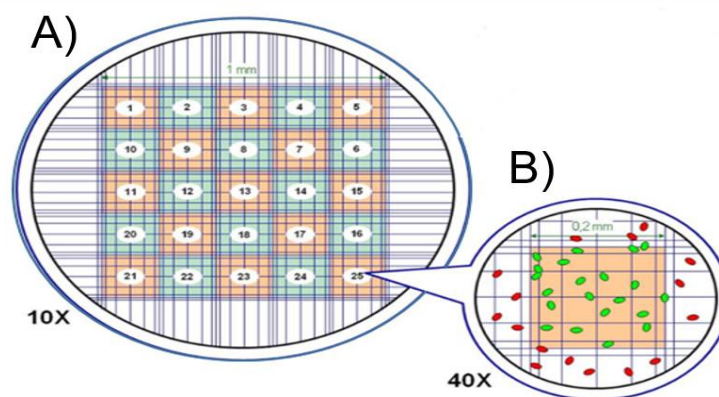


Figura 16 Celdas de conteo vistas desde el microscopio a una magnificación de A) 10x y B) 40x [147].

La sumatoria del conteo de las células en cada uno de las celdas 1, 5, 15, 21 y 25 y la concentración de la muestra fue determinada con la siguiente Ecuación 6 [147]:

$$\#_{cel} / ml = (\#_{cel})(50)(1000)(FD) \quad (6)$$

En donde, #cel es la sumatoria del conteo realizado con el microscopio de ambos cuadros, 50 es el total de celdas por los dos cuadros, 1000 se refiere a los 1000 ml correspondientes a 1L y FD es el factor de dilución. En el caso de la cuantificación de la microalga *C. vulgaris* las muestras tomadas no se diluyeron por lo que el FD fue de 1.

3.6.3.2 Cuantificación del Crecimiento de las Microalgas por Medio del Espectrofotómetro de Absorbancia

La espectrofotometría de absorbancia es una técnica de análisis utilizada para cuantificar la concentración de muestra presente en solución. El principio físico

del espectrómetro de absorbancia se basa en que los materiales absorben la luz de cierta longitud de onda a medida que pasa a través de la solución. La ley de Beer se representa mediante la Ecuación 7 y establece que un haz de luz de una longitud de onda es absorbida por una sustancia a través de una longitud constante (trayectoria de luz) y es proporcional a la concentración de esa sustancia [148].

$$A_n = l \times c \quad (7)$$

Donde, A_n es la absorbancia en (nm), l es la trayectoria de la luz y c la concentración. En la Figura 17 se puede observar el principio físico de un espectrofotómetro de absorbancia [148].

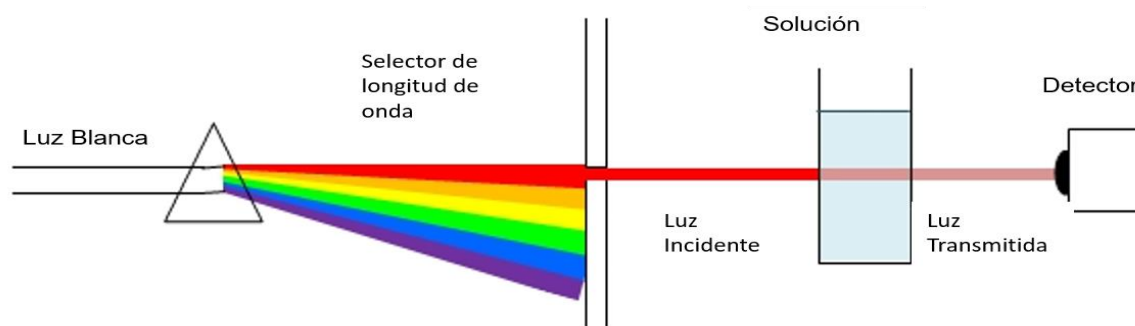


Figura 17. Principio físico de un espectrofotómetro de absorbancia [148].

Además de cuantificar la concentración de elementos presentes en las soluciones, el espectrofotómetro también se utiliza para cuantificación del desarrollo de la biomasa producida. Una de las longitudes de onda más utilizadas para dar lectura a la producción del cultivo de microalgas es a $\lambda = 750\text{nm}$ [149], la cual fue utilizada en la presente investigación. Previo a la lectura en el espectrofotómetro y como primer paso se hacía la medición del blanco, agua destilada, dentro de la celda para posteriormente dar lectura de la absorbancia. En la elaboración de la gráfica de crecimiento se tomaron tres lecturas por muestra para después obtener la media

aritmética. El espectrofotómetro utilizado para este propósito fue un equipo de Beckman Coulter modelo DU 560.

Es importante mencionar que el espectrofotómetro fue utilizado para evaluar el crecimiento de la microalga *Spirulina* y también para la cuantificación de la extracción de la clorofila. La longitud de onda utilizada para la extracción de clorofila varía dependiendo del extractante que se utilice, así como el tipo de clorofila que se quiera estudiar [150]. Las condiciones de las lecturas para la extracción de la clorofila se mencionan más adelante.

3.7 Sistemas Inoculación, Extractantes Óptimos de Clorofila “a” (Chl “a”) y Cuantificación de Biomasa

La actividad final correspondiente a la Etapa 2 consistió en la selección del método de inoculación más adecuado entre los métodos de goteo o contacto con el medio y el extractante óptimo. El desarrollo de los materiales bio-receptivos tuvo como etapa final la inoculación de los especímenes luego de haber seleccionado el método más óptimo.

3.7.1 Prueba Preliminar de Método de Inoculación y Extractante de Clorofila “a” (Chl “a”)

Se ha reportado que la extracción de clorofila tipo “a” (Chl “a”) ha sido muy estudiada en las microalgas [151]. El Dimetil Sulfóxido (DMSO) es el extractante más utilizado desde el punto de vista de los materiales de construcción [13,18]. Sin embargo, desde el punto de vista microbiológico, los extractantes más utilizados

son el metanol (CH_3OH), etanol ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$) y acetona ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$) [151–153]. De lo anterior, se realizaron pruebas para evaluar la capacidad extractiva del DMSO, metanol, etanol y la acetona con la finalidad de seleccionar el más óptimo.

En la literatura científica se ha reportado la aplicación de los dos métodos de inoculación: goteo y contacto con el medio [10,13]. Para seleccionar el método de inoculación y el extractante más óptimo, se hicieron pruebas preliminares por lo que se elaboraron 3 muestras por extractante para cada método de inoculación dando un total de 24 especímenes. El tiempo de inoculación fue durante 7 días en muestras del sistema CH/CV/CPO ya que su fabricación fue la más rápida para obtener el pH requerido y fue utilizado inóculo de la microalga *Spirulina* por su pH alcalino.

Los especímenes fueron introducidos en una autoclave a una temperatura de 121°C a una presión de 15 libras durante 15 minutos para su esterilización previo a la inoculación. Es importante mencionar que la inoculación fue realizada en condiciones asépticas considerando el mismo fotoperiodo dentro de la producción de biomasa de las microalgas. En la Figura 18 se pueden observar fotografías de los dos métodos de inoculación de contacto con el medio y goteo utilizados en especímenes del sistema CH/CV/CPO.

En la Figura 18 A) se muestra un espécimen del sistema CH/CV/CPO que fue inoculado con 10 ml de la microalga *Spirulina* por medio del método de contacto con el medio. Los especímenes fueron colocados dentro de una cajita Petri con agua destilada y diariamente se enjuagaban con agua destilada y se les suministraba nuevamente 50ml de agua destilada.

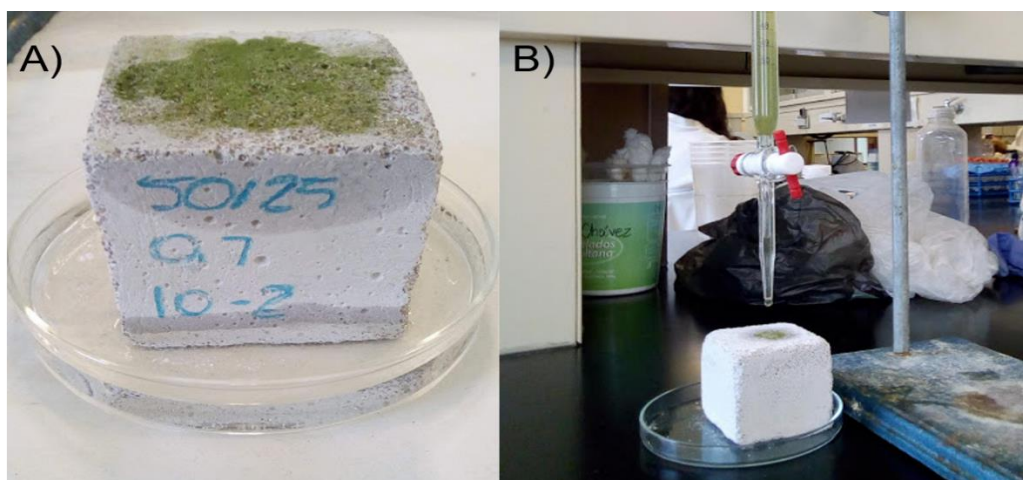


Figura 18. Inoculación de especímenes del sistema CH/CV/CPO por medio de los métodos de A) contacto con el medio y B) goteo.

En la Figura 18 B) se muestra un espécimen del sistema CH/CV/CPO siendo inoculado por el método de goteo. Para ello fue utilizada una bureta de vidrio con capacidad de 50 ml y diariamente se le adicionaban 40ml de biomasa. Una vez transcurridos 7 días, se procedió a la extracción de la clorofila y poder determinar el método óptimo entre contacto con el medio y goteo.

Es muy común que el extractante DMSO sea utilizado de manera pura [13,154]. Sin embargo, el metanol, etanol y acetona se utilizan al 90% y se diluyen con 10% de agua destilada [151–153]. El volumen de DMSO de acuerdo a una investigación es de 0.43 ml DMSO/cm² por muestra [154]. En los especímenes solo fue inoculado una cara del cubo, es decir, un área de 25 cm² por lo que el DMSO requerido fue de 11.75ml \approx 12ml. Se ha reportado que el volumen requerido para el metanol, etanol y acetona es de 2.5 ml/cm² [151]. De lo anterior, fueron requeridos 65 ml de los extractantes antes mencionados.

Como parte de la prueba preliminar, fue realizada la extracción de la clorofila de los especímenes con la ayuda de un dispositivo de ultrasonido a 40 KHZ durante

10 minutos, de tal forma que los especímenes eran colocados con la superficie inoculada hacia abajo sumergidos en el extractante y dentro de un recipiente con tapa para evitar que se volatilizara.

El sistema de inoculación óptimo resultó ser el de goteo y el extractante fue el metanol. Por lo anterior, fue elaborado un sistema de goteo el cual se explica más adelante y las condiciones de extracción de la clorofila se repitieron para el extractante óptimo, el metanol.

3.8 Sistema de Inoculación por Goteo

Se hizo el diseño de un sistema de inoculación por la técnica de goteo con un sistema de riego para los especímenes con retorno del excedente a los biorreactores. En la Figura 19 se puede observar el sistema compuesto por tres partes principales que son: el biorreactor, sistema de riego por goteo y los contenedores. Dentro de los biorreactores fue introducida una bomba de 600 l/h de 9.5W de la marca Biopro que fue conectada por medio de una manguera al ramal principal de goteo por medio de una válvula de cobre con rosca interna de $\frac{1}{2}$ ". El ramal principal fue elaborado con tubería de CPCV de $\frac{1}{2}$ " unido a una conexión en 'T' para generar seis líneas secundarias y cada línea contaba con 5 regulador de aire de acuario las cuales funcionaban como llaves de paso. Estas llaves fueron abiertas de tal forma que solo cayera una gota a cada uno de los especímenes cada 2 s aproximadamente durante las 24 hrs.



Figura 19. Sistema de inoculación por goteo.

Los especímenes fueron colocados en cajas de plástico con una pendiente formada por una altura de 10 cm desde su base, de tal forma que la biomasa excedente fuera recirculada al biorreactor por medio de una manguera conectada al contenedor. En total se fabricaron tres sistemas de inoculación por goteo, es decir, uno para cada microalga. La inoculación de los diferentes especímenes se llevó a cabo en una cámara ambiental de la marca Biotronette modelo Mark III. La cámara ambiental fue cubierta con una mampara con la finalidad de que la luz exterior del laboratorio no tuviera influencia en la colonización de los especímenes cuando se le daba mantenimiento.

Los sistemas fueron inoculados en pares, es decir, primero fueron inoculados los sistemas CPO-100 y ANH/EAH/HS y después los sistemas HS/CPO y CH/CV/CPO. La ubicación de los biorreactores fue diferente ya que la cámara

ambiental tuvo que ser adaptada para que tuviera un nivel superior para los tres biorreactores, además de evitar que la ubicación tuviera algún efecto en la experimentación. Por lo anterior, cuando se inocularon los especímenes del sistema CPO-100 y ANH/EAH/HS, en la parte superior fue situado el biorreactor del *Csc-1* y en la parte inferior los biorreactores de las microalgas *Spirulina* y *C. vulgaris*. En la inoculación de los sistemas HS/CPO y CH/CV/CPO en la parte superior fue colocado el biorreactor de la microalga *C. vulgaris* y en la parte inferior los biorreactores de la microalgas *Spirulina* y *Csc-1*.

El tiempo de inoculación fue de cinco semanas y en cada semana fueron seleccionados tres cubos al azar de cada microalga y de cada uno de los sistemas, CPO-100, HS/CPO, ANH/EAH/HS y CH/CV/CPO. Posteriormente, a los especímenes seleccionados les fueron tomadas fotografías y se les extraía la clorofila. Las tres muestras eran puestas en un refrigerador a una temperatura de 5°C, una de ellas para su análisis de MEB y las otras dos para la cuantificación de producción de biomasa final. Es importante mencionar que durante la inoculación los cubos se estuvieron rotando y moviendo de su posición cada dos días para que no fuera un factor en la colonización de las microalgas. Durante el tiempo de inoculación, fue agregado medio Bristol suficiente en base a las necesidades de cada microalga.

3.9 Análisis de Resultados de la Clorofila “a” (Chl “a”)

Extraída

La disolución obtenida de la clorofila extraída en cada uno de los especímenes fue analizada con la ayuda de un Espectrofotómetro de Absorbancia con una resolución de 0.1-0.5 nm. Por lo anterior, fue necesario hacer una revisión de la literatura científica para determinar la concentración de la clorofila y se encontraron ecuaciones matemáticas en función del tipo de extractante, longitud de onda y resolución del espectrofotómetro [150]. En la Tabla 6 se presenta un listado de ecuaciones para calcular la concentración de la Chl “a” utilizadas en este proyecto de tesis.

Tabla 6 Ecuaciones para la extracción de la Chl “a” [150].

Extractante	Ecuación
A) Acetona	$C_a = 12.25 A_{663.2} - 2.79 A_{646.8}$
B) DMSO	$C_a = 12.47 A_{665.1} - 3.62 A_{649.1}$
C) Metanol	$C_a = 16.72 A_{665.2} - 9.16 A_{652.4}$

De donde C_a es la concentración de la Chl “a” extraída, A es la absorbancia medida en el espectrofotómetro y el subíndice es la longitud de onda requerida en el espectrofotómetro. En base a lo anterior, se hizo el registro de dos valores de absorbancia debido las dos longitudes de onda según el extractante. En el caso del etanol se utilizó la misma ecuación que corresponde al metanol. La prueba preliminar determinó que el extractante óptimo fue el metanol.

La evaluación de la extracción de la clorofila en los especímenes de los sistemas CPO-100, HS/CPO, CH/CV/CPO y ANH/EAH/HS fue considerando la ecuación C) de la Tabla 6, debido a que el extractante óptimo resultó ser el metanol. Los valores de $A_{665.2}$ son las lecturas que indica el equipo cuando se utiliza la

longitud de onda de 665 nm y de igual forma para $A_{652.2}$ cuando se usa la longitud de onda 652 nm. De lo anterior, cada muestra de clorofila extraída era medida con cada una de las longitudes de onda que involucra la ecuación y de las mediciones registradas se obtuvo la media para cuantificar la concentración de Chl “a” en porcentaje.

3.10 Cuantificación de la Producción de Biomasa Final

Otra forma de evaluar la bio-receptividad y/o colonización de las microalgas en las MC es por medio de la cuantificación de la biomasa en (mg/mm²) [11] y se puede obtener por medio de la diferencia en peso de los especímenes sin inocular e inoculados durante el tiempo de estudio.

Para la obtención de la biomasa (mg) producida por espécimen se hizo una diferencia de la masa de las muestras inoculadas y del peso sobresaturado superficialmente seco (PSSS). El valor del PSSS de cada uno de los especímenes fue obtenido al momento de mediar la porosidad de acuerdo a la Norma ASTM C 642 [106]. Posteriormente, el valor de la biomasa fue dividido entre el área de los especímenes y el valor final fue obtenido de la media aritmética de dos muestras de cada microalga en cada una de las MC.

El valor de PSSS fue tomado como la masa de las muestras de referencia o sin inocular. Los especímenes inoculados fueron sumergidos en agua por más de 48 hrs hasta obtener un peso constante con una variación no mayor a 0.05% entre ellas y el valor fue registrado como el Peso Inoculado. En la Figura 20 se observa

las muestras del sistema HS/CPO sin inocular e inoculada dentro de una balanza analítica.

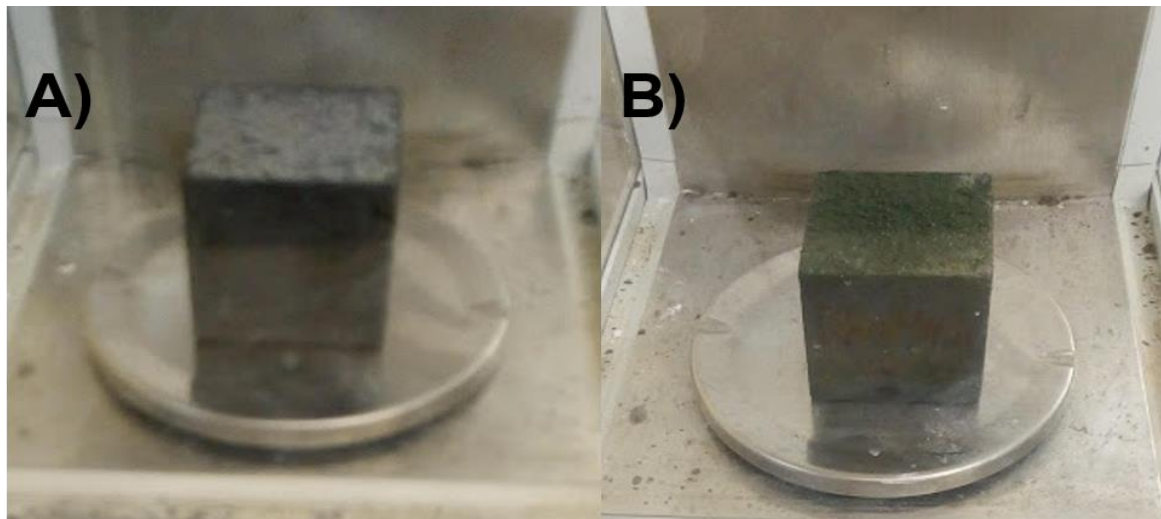


Figura 20. Muestras del sistema HS/CPO: A) Sin inocular y B) Inoculada.

CAPÍTULO 4

4 Resultados y Discusión

4.1 Caracterización de la Materia Prima

A continuación, se presentan los resultados del análisis por FRX y DRX de la materia prima que fue utilizada en este proyecto de tesis.

4.1.1 Cemento Portland Ordinario (CPO)

En la Tabla 7 se muestran los resultados del análisis químico por Fluorescencia de Rayos X (FRX) del cemento tipo I CPO 40 de CEMEX y en donde se puede observar que la concentración de Al_2O_3 se encuentra dentro del rango permisible del 6 % e.p. en base a la Norma ASTM C150-12 [122].

Tabla 7. Composición química del CPO 40 CEMEX

MATERIAL	% en peso									
	SiO ₂	MgO	CaO	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	Na ₂ O	K ₂ O	SO ₃	TiO ₂	Balance
CPO	23.07	1.01	61.28	3.12	3.51	-	1.39	5.97	0.22	0.43

Sin embargo, los resultados no cumplen con el porcentaje máximo permisible de óxido de azufre (SO₃) con más del 2.5% en peso.

En la Figura 21 se muestra el análisis DRX del cemento CPO 40 de CEMEX donde se pueden observar picos de difracción de las fases cristalinas presentes tales como la alita conocida como silicato tricálcico (C₃S). Además, se pudieron detectar picos de difracción de aluminato tricálcico (C₃A) y en menor difracción de hidróxido de calcio [Ca(OH)₂] en forma de Portlandita (P). De lo anterior, se puede decir que los resultados arrojados por el análisis FRX coinciden con el análisis por DRX, debido a que el CaO realmente es el calcio presentado en tres diferentes cristales.

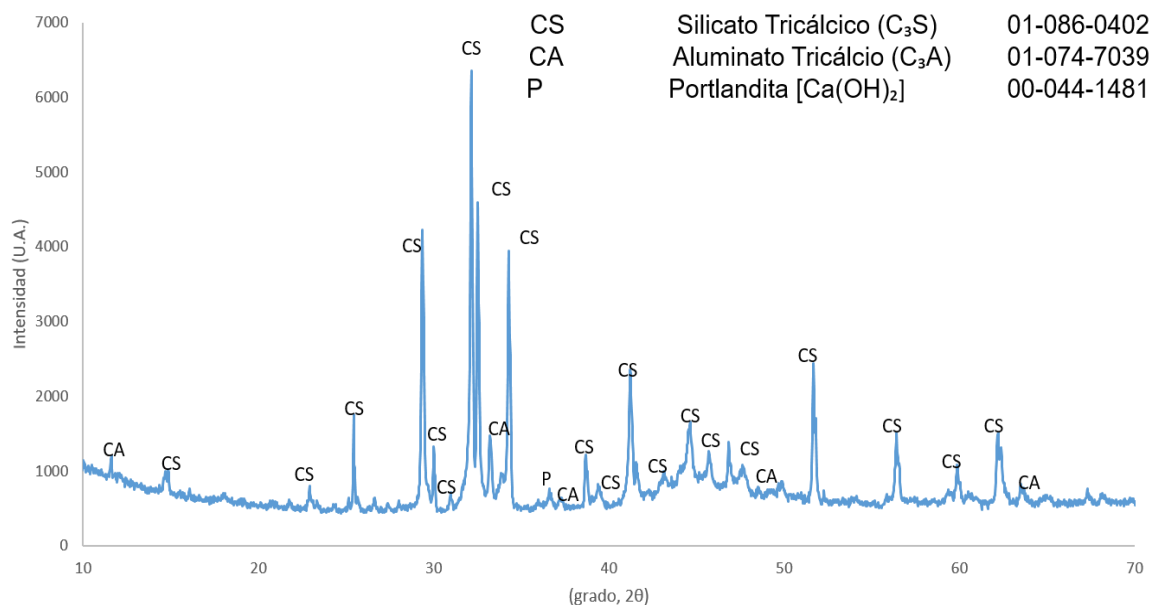


Figura 21. Análisis DRX del cemento CPO 40 CEMEX

4.1.2 Humo de Sílice (HS)

En la Tabla 8 se muestra la composición química por análisis FRX del HS, el cuál cumple con la Norma ASTM C1240 [124] ya que está compuesto con más del 85% en peso de óxido de silicio (SiO_2). El segundo elemento en mayor concentración es el óxido férrico (Fe_2O_3). El resto de los materiales que lo conforman son menores al 1 % en peso.

Tabla 8. Composición química del HS.

MATERIAL	% en peso									
	SiO_2	MgO	CaO	Al_2O_3	Fe_2O_3	Na_2O	K_2O	SO_3	TiO_2	Balance
HS	97.06	0.16	0.75	-	1.24	-	0.4	0.26	-	0.13

En la Figura 22 se puede observar el análisis DRX del HS y se puede observar un difractograma representativo de su amorficidad, además de dos picos de difracción representativos de fases cristalinas de óxido de sílice (SiO_2); siendo uno de los picos de Cuarzo (Qz) característico de un sistema cristalino hexagonal y la Cristobalita (Crs) con un sistema cristalino tetragonal. De lo anterior, se puede decir que los resultados arrojados por la FRX coinciden con la DRX.

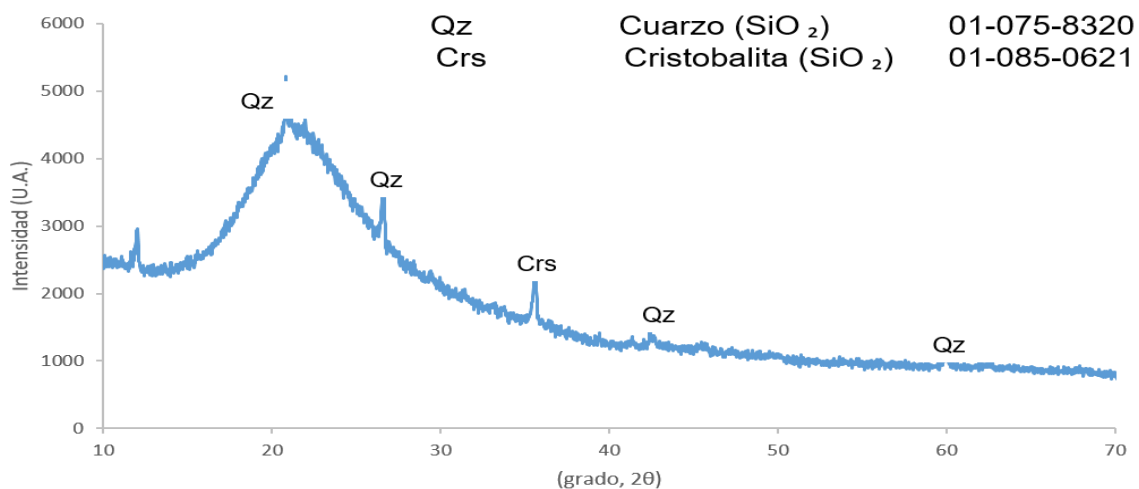


Figura 22. Análisis DRX de HS.

4.1.3 Cal Hidratada (CH)

En la Tabla 9 se muestran los resultados de la composición química por FRX de la CH. Se puede observar que cumple con lo especificado en la ficha técnica del proveedor con una concentración por arriba del 90% en peso el óxido de calcio (CaO) [125] y en proporciones menores del óxido de silicio (SiO₂) y de óxido de magnesio (MgO).

Tabla 9. Composición química de la CH.

MATERIAL	% en peso									
	SiO ₂	MgO	CaO	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	Na ₂ O	K ₂ O	SO ₃	TiO ₂	Balance
CH	2.78	2.61	93.8	0.2	-	-	0.29	-	-	0.32

En la Figura 23 se puede identificar el difractograma de la CH en la cual se pueden apreciar picos de difracción característicos de la Portlandita (P), [Ca(OH)₂] y carbonato de calcio (CaCO₃) en su fase calcita (C). El sistema cristalino de la P es de tipo hexagonal y romboédrico para la C.

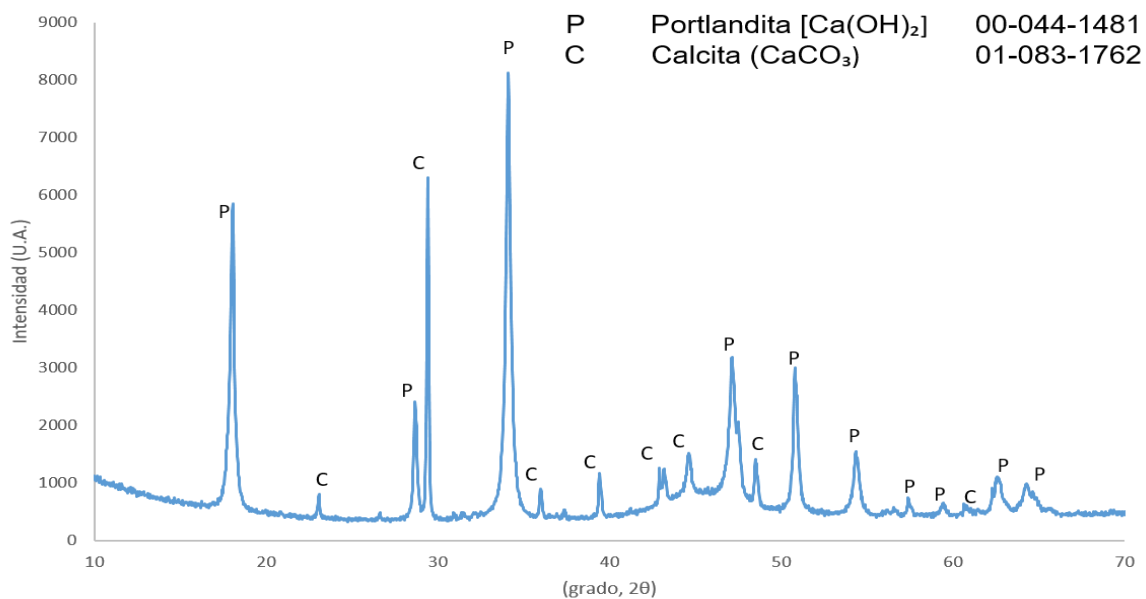


Figura 23. Análisis DRX de CH

4.1.4 Ceniza Volante (CV)

En la Tabla 10 se pueden observar los resultados de la composición química por FRX de la CV. En base a la Norma ASTM C618-12 [127] la CV es de tipo F ya que la sumatoria de concentración de óxido de silicio (SiO_2), óxido de aluminio (Al_2O_3) y óxido férrico (Fe_2O_3) es mayor al 70% e.p.

Tabla 10. Composición química de la CV.

MATERIAL	% en peso									
	SiO ₂	MgO	CaO	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	Na ₂ O	K ₂ O	SO ₃	TiO ₂	Balance
CV	71.5	0.45	1.5	19.95	3.68	0.13	1.06	0.51	0.93	0.29

En la Figura 24 se presenta el difractograma de la CV donde se observan picos de difracción de cuarzo (Qz) con un sistema del tipo cristalino hexagonal y silicato de aluminio [$3(\text{Al}_2\text{O}_3) 2(\text{SiO}_2)$] en su fase Mullita (MI) con un sistema ortorrómbico. Los resultados del análisis DRX se dan en común acuerdo con los del análisis por FRX en las fases presentes de SiO_2 y Al_2O_3 .

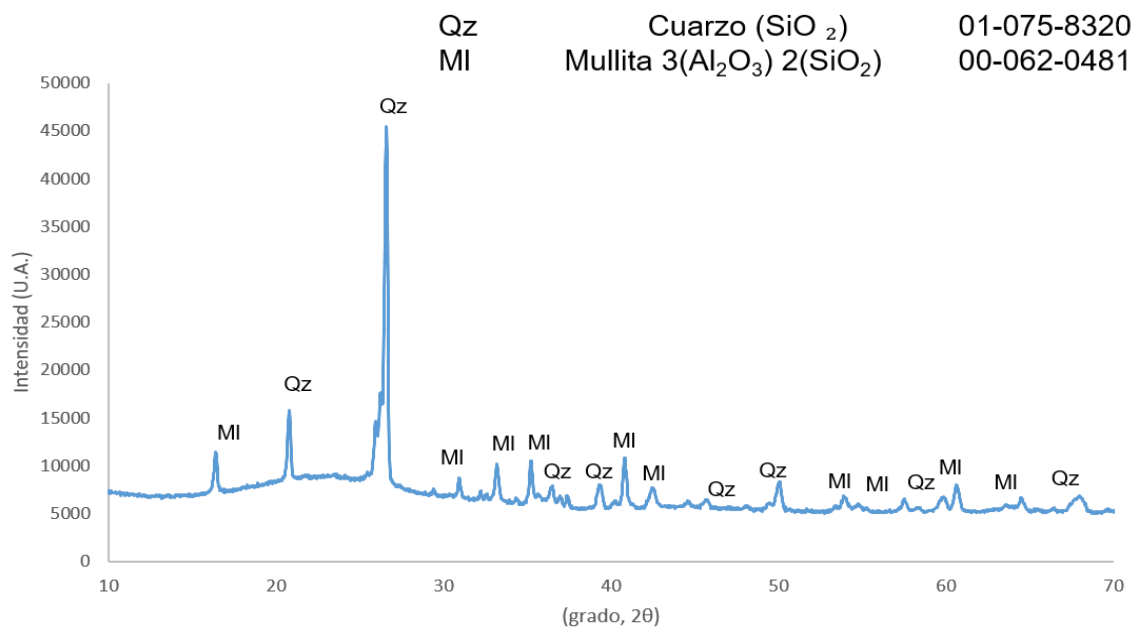


Figura 24. Análisis DRX de CV.

4.1.5 Anhidrita (ANH)

En la Tabla 11 se muestra el análisis por FRX de la anhidrita y en donde se puede observar que las concentraciones mayores corresponden al óxido de azufre (SO_3) y óxido de calcio (CaO).

Tabla 11. Composición química de la ANH.

MATERIAL	% en peso									
	SiO ₂	MgO	CaO	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	Na ₂ O	K ₂ O	SO ₃	TiO ₂	Balance
ANH	0.94	0.19	39.4	0.42	0.11	0.06	-	56.85	-	2.03

En la Figura 25 se muestra el análisis DRX de la ANH y en donde se muestran picos de difracción característicos de sulfato de calcio (CaSO_4) el cual es anhidrita (A) con un sistema cristalino ortorrómbico. Al haber sufrido la calcinación se verifica que el CaSO_4 pasó de su fase HH a la ANH. De los resultados por análisis DRX, se puede verificar, que lo obtenido por análisis de FRX, el SO_3 y el CaO forman CaSO_4 en su fase A.

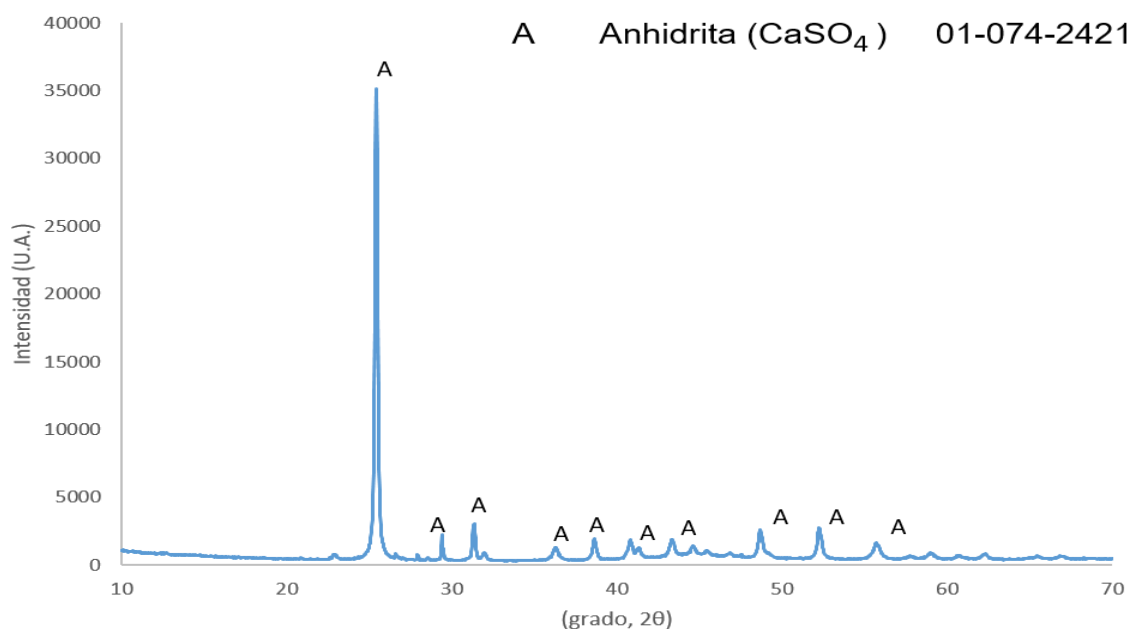


Figura 25. Análisis DRX de ANH.

4.1.6 Escoria de Alto Horno (EAH)

En la Tabla 12 se presenta la composición química por FRX de la EAH y se puede observar que las concentraciones mayores son de óxido de calcio (CaO) y óxido de sílice (SiO₂). El óxido de magnesio (MgO) y el óxido de aluminio (Al₂O₃) se encuentran en concentraciones menores al 10% e.p. cada uno y el resto es menor al 4% en peso.

Tabla 12. Composición química de la EAH.

MATERIAL	% en peso									Balance
	SiO ₂	MgO	CaO	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	Na ₂ O	K ₂ O	SO ₃	TiO ₂	
EAH	31.66	9.5	42.91	9.64	0.54	0.34	0.47	3.02	-	1.92

El análisis químico por FRX de la EAH fue utilizado para obtener los valores de basicidad (P) e hidraulicidad (F). Los valores obtenidos de P=1.27 >1 y F=1.96 > 1.4 indican que la EAH puede utilizarse como cementante [130].

En la Figura 26 se muestra el difractograma de la EAH, el cual presenta picos de difracción característicos del carbonato de calcio (CaCO₃) en su forma de Calcita (C). Lo anterior, se encuentra en común acuerdo con el análisis por FRX de la EAH ya que el calcio se encuentra en forma de C. Es importante señalar que el carbono no puede ser detectado en el equipo de FRX por ser un elemento ligero de bajo número atómico.

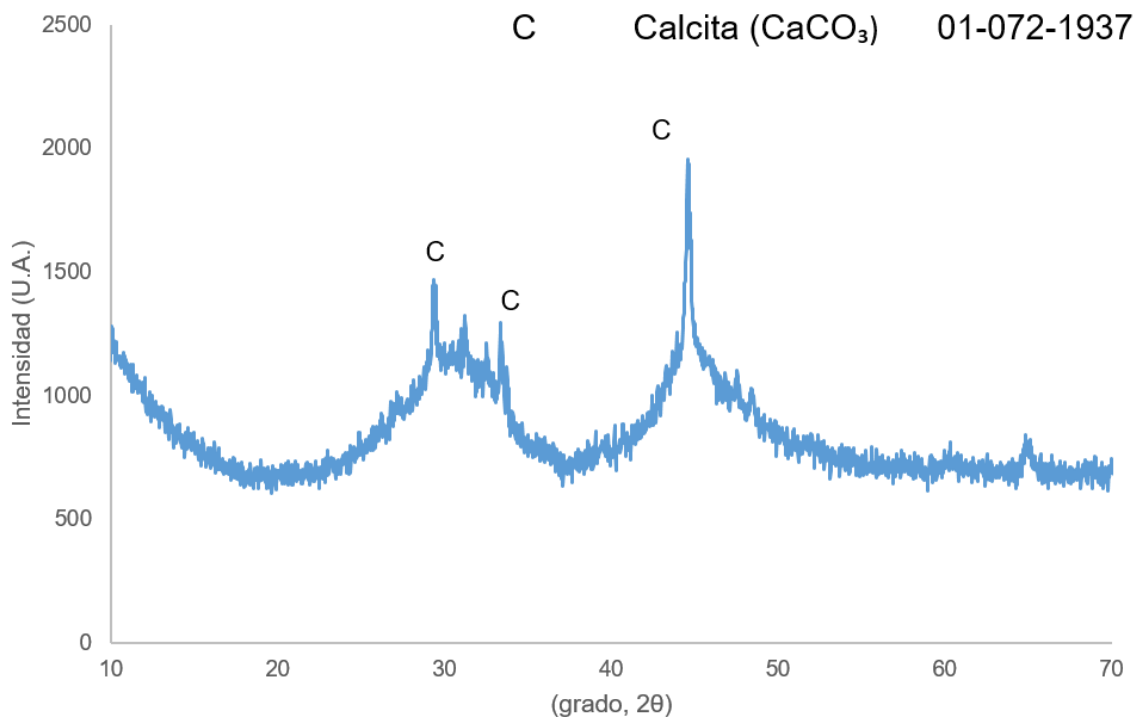


Figura 26. Análisis DRX de EAH.

4.1.7 Agregado Fino

En la Tabla 13 se presentan los resultados de la composición química por FRX de la arena sílica y en donde se puede observar que la mayor concentración corresponde al óxido de sílice (SiO_2). Además, se pueden observar concentraciones menores de óxido de aluminio (Al_2O_3) y de óxido de sodio (Na_2O).

Tabla 13. Composición química de la Arena sílica.

MATERIAL	% en peso									
	SiO ₂	MgO	CaO	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	Na ₂ O	K ₂ O	SO ₃	TiO ₂	Balance
A. Sílica	95.04	-	-	2.01	0.16	1.867	0.81	-	-	0.11

En Figura 27 se muestra el análisis por DRX de la arena sílica en donde se aprecian picos característicos de óxido de sílice (SiO_2) en forma de cuarzo (Qz) en común acuerdo con el análisis FRX.

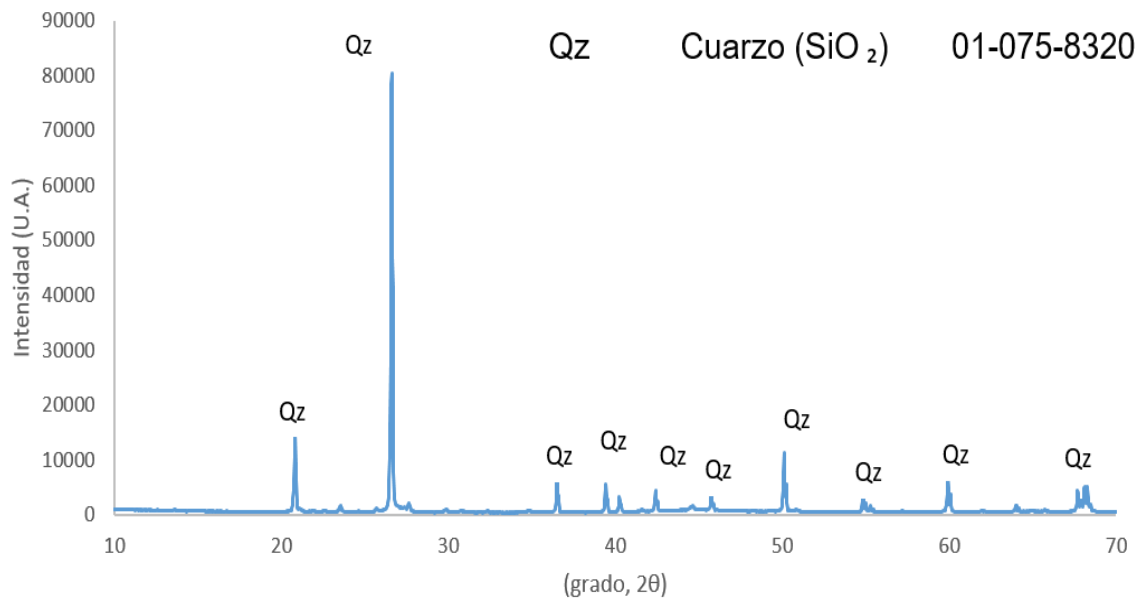


Figura 27. Análisis DRX de la Arena Sílica.

4.2 Evolución del pH en las Matrices Cementantes

4.2.1 Sistema de Referencia de Cemento Portland Ordinario (CPO-100)

En la Figura 28 se presenta la evolución del pH con respecto al tiempo del sistema de referencia CPO-100 y en donde se puede observar que las curvas de pH de ambas relaciones a/mc presentan una clara tendencia a aumentar su valor en los primeros días y se estabilizan después del día 14. En el día 1 se presenta en ambas MC el pH más bajo y después comienza a aumentar con el paso del tiempo.

Los valores de pH obtenidos después del día 28 coinciden con lo reportado en la literatura con valores de pH de 12-13 [16]. J.L. Garcia-Calvo y col. reportaron que la razón por la que ambas MC presenten valores de pH superior a 12 es debido a la formación de la Portlandita $[\text{Ca}(\text{OH})_2]$ [71]. La tendencia de la curva de valores

de pH en ambas relaciones a/mc es de incrementar con respecto al tiempo y tienden a una estabilidad en su pH.

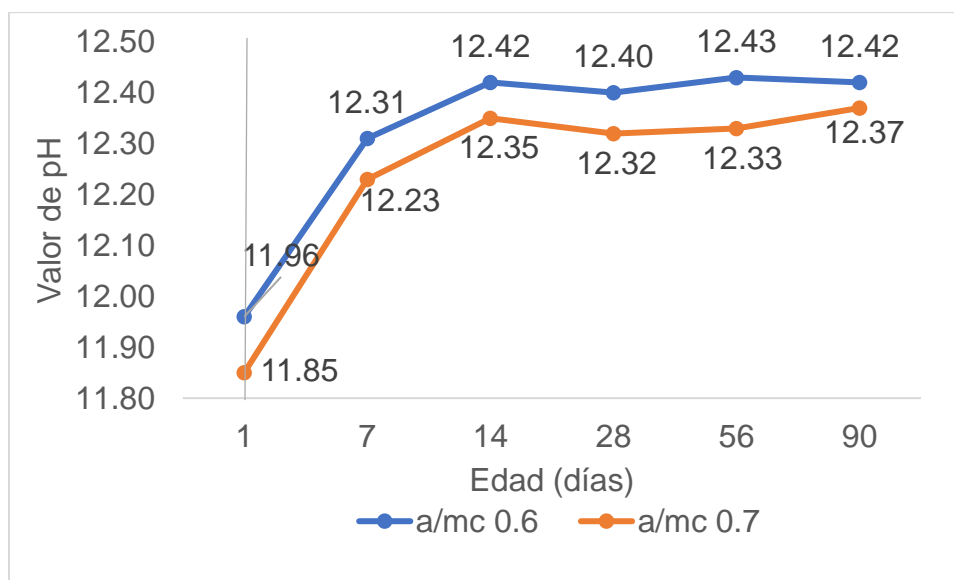


Figura 28. Evolución del pH en MC de CPO-100 a diferentes edades y relación a/mc.

Una vez elaborados los especímenes con relación a/mc de 0.7 se pudo observar sangrado el cual es frecuente al utilizar relaciones a/mc muy altas [155]. Debido a lo anterior, fue seleccionada la relación a/mc de 0.6 como la MC óptima para el sistema CPO-100. En base al estudio de la evolución de pH del sistema se decidió inocular los especímenes a los 28 días cuando el pH es estable y no presenta variaciones considerables.

En la Tabla 14 se muestran los análisis por FRX de la MC óptima del sistema de referencia CPO-100 a los diferentes días de ensaye, así como sus respectivos valores de pH. Además, se aprecia que el SiO_2 se encuentra en concentraciones mayores seguido del CaO y SO_3 .

Tabla 14. Composición química y condiciones de trabajo de los morteros del sistema CPO-100.

Sistema	Edad (días)	% en peso										pH
		SiO ₂	MgO	CaO	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	Na ₂ O	K ₂ O	SO ₃	TiO ₂	Balance	
CPO-100 a/mc 0.6	1	85.95	0.18	10.62	1.03	0.31	-	0.23	1.52	-	0.17	11.96
	7	81.35	0.22	14.15	1.17	0.37	-	0.35	2.21	-	0.19	12.31
	14	79.59	0.27	15.26	1.40	0.40	-	0.37	2.52	-	0.19	12.42
	28	77.82	0.27	17.03	1.40	0.45	-	0.27	2.52	-	0.22	12.4
	56	74.51	0.33	19.45	1.69	0.50	-	0.28	3.01	-	0.23	12.43
	90	76.52	0.26	17.46	1.31	0.46	-	0.27	2.87	-	0.87	12.42

A la edad de 1 día se presentó la menor concentración de CaO y la mayor concentración de SiO₂. Sin embargo, después del día 1 se pudo observar un aumento de la concentración de CaO y a su vez una disminución del SiO₂. La concentración de SO₃ permanece casi constante en un rango que va del al 3 % e.p. Es sabido que las concentraciones de los iones calcio en especímenes del 100% de cemento Portland se incrementan al aumentar su edad y el pH se mantiene estable [71]. Un comportamiento similar se presenta en esta investigación, ya que el CaO aumenta al pasar el tiempo.

En la Figura 29 se presenta la evolución de las fases cristalinas de los morteros de la MC CPO-100 por medio de análisis DRX. En los diferentes difractogramas se aprecian picos de difracción representativos de diferentes compuestos como Cuarzo SiO₂ (Q), Portlandita (P) y Silicato de Calcio Hidratado (S-C-H). Los cuales coinciden con el análisis químico por FRX ya que el SiO₂ se encuentra presente en forma de Q y S-C-H. El contenido de CaO se encuentra presente en forma de P, así como también forma parte del S-C-H.

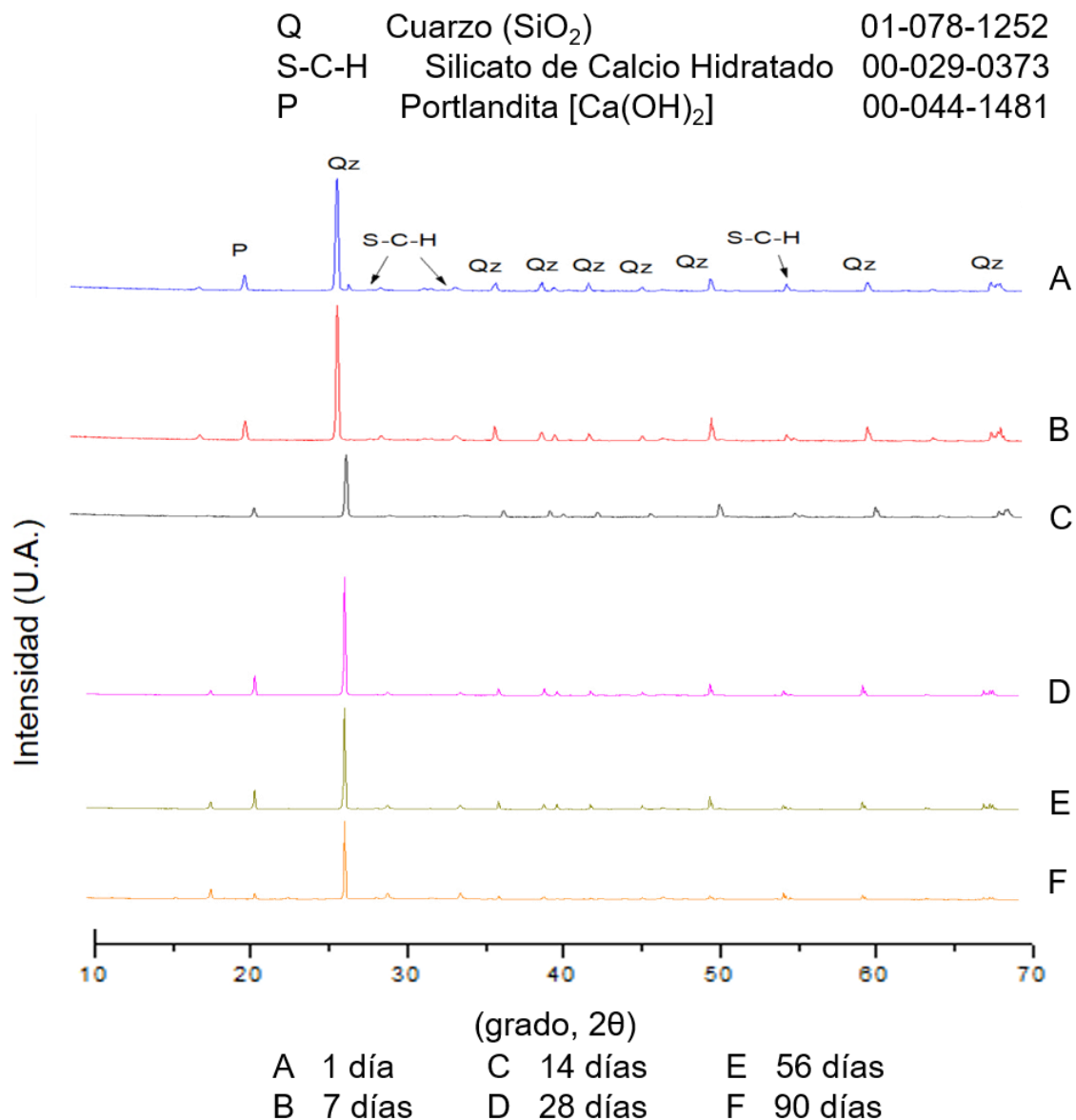


Figura 29. Análisis DRX de la MC de CPO-100 con relación a/mc de 0.6 a diferentes edades.

Con base en los análisis DRX y de FRX de la evolución de las fases presentes en el sistema CPO-100 se pudiera decir que la formación del S-C-H por medio de las reacciones de hidratación se mantiene desde el día 1 hasta el 90.

4.2.2 Sistema de Humo de Sílice y Cemento Portland Ordinario (HS/CPO)

En la Figura 30 se puede observar la evolución del pH en las MC del sistema HS/CPO con ambas relaciones a/mc de 0.6 y 0.7. Además, se muestra un comportamiento muy similar en ambas curvas con valores máximo de pH a 1 y 56 días y un mínimo a 14 días.

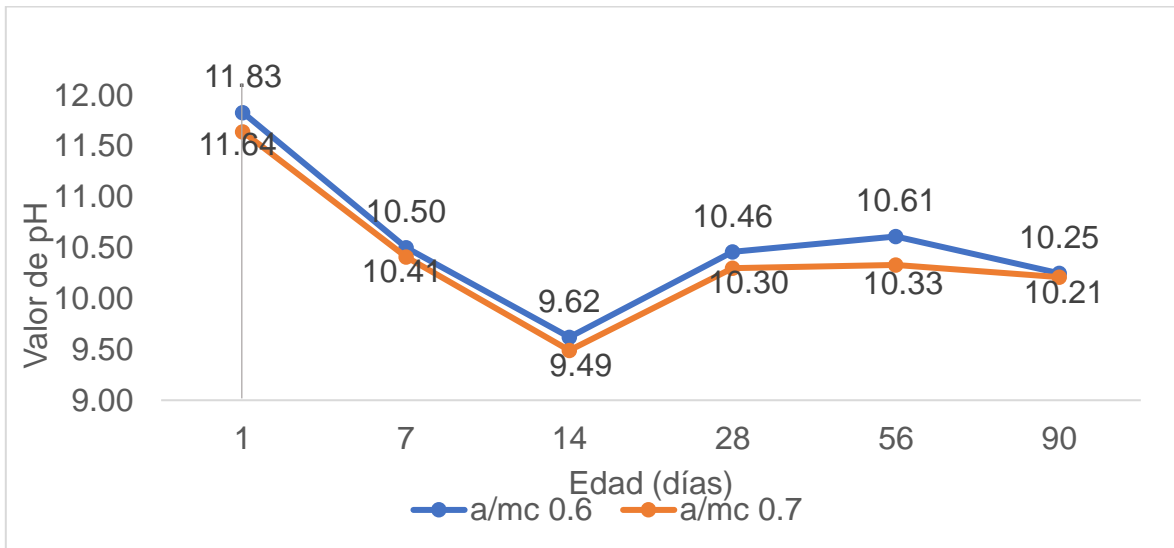


Figura 30. Evolución del pH en MC del sistema HS/CPO a diferentes edades y relación a/mc.

La curva tuvo un comportamiento creciente entre los días 14 y 28 para después tener un comportamiento estable desde el día 28 hasta el 90. Se ha reportado que los grandes cambios de pH ocurren entre los primeros 30 días en MC con altas sustituciones de puzolana por cemento Portland y la tendencia a permanecer estable se mantiene hasta por 2 años [70,71]. No se pudo determinar el motivo del decrecimiento de los valores de pH por el cronograma de actividades.

Por lo anterior, la inoculación de las MC del sistema HS/CPO fue realizado después de los 28 días de curado. En pastas con altas sustituciones de HS se ha

reportado que la formación de Portlandita disminuye con el transcurso del tiempo [71]. Lo anterior, se hace evidente debido a que durante los 90 días las MC alcanzaron el equilibrio reflejado en su valor de pH.

En la Figura 30 se puede apreciar que la MC con relación a/mc de 0.7 presenta valores de pH menores que los obtenidos con la relación a/mc de 0.6. Q. Pu y col. reportaron que este comportamiento se presenta en sistemas con altas relaciones a/mc [72]. De lo anterior, fue determinado que la MC óptima para el sistema HS/CPO es utilizando una relación a/mc de 0.7.

En la Tabla 15 se presentan los análisis químicos por FRX del sistema HS/CPO y se puede apreciar que la MC está constituida por más del 90% de óxido de sílice (SiO₂). Las altas concentraciones de SiO₂ muy probablemente provienen tanto de la arena sílica como del HS. En cuanto a los elementos alcalinos, se encuentran presentes óxido de calcio (CaO) y óxido de potasio (K₂O). El contenido del CaO presentó variaciones en su concentración en las diferentes edades a diferencia del K₂O que se mantuvo en cierta forma constante alrededor del 1%.

Tabla 15. Composición química y condiciones de trabajo de los morteros del sistema HS/CPO.

Sistema	Edad (días)	% en peso										pH
		SiO ₂	MgO	CaO	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	Na ₂ O	K ₂ O	SO ₃	TiO ₂	Balance	
HS/CPO a/mc 0.7	1	92.88	-	3.91	1.09	0.32	-	1.14	0.49	-	0.17	11.64
	7	91.09	-	5.45	1.11	0.34	-	1.07	0.74	-	0.19	10.41
	14	90.99	-	5.61	1.10	0.35	-	1.10	0.73	-	0.14	9.49
	28	90.18	-	6.48	1.05	0.38	-	1.05	0.73	-	0.14	10.46
	56	92.95	0.15	3.57	1.57	0.24	-	0.86	0.57	-	0.09	10.61
	90	90.68	-	5.87	1.10	0.34	-	1.09	0.73	-	0.19	10.25

En la Figura 31 se muestra el análisis de DRX de la MC óptima del sistema HS/CPO. Se pueden observar picos característicos de óxido de sílice (SiO₂) en su

fase cuarzo (Qz) y en menor reflexión un pico característico de silicato tricálcico (C_3S). Lo anterior, en común acuerdo con el análisis de FRX en donde se pudo observar que el sistema HS/CPO está compuesto en mayor proporción de SiO_2 y CaO .

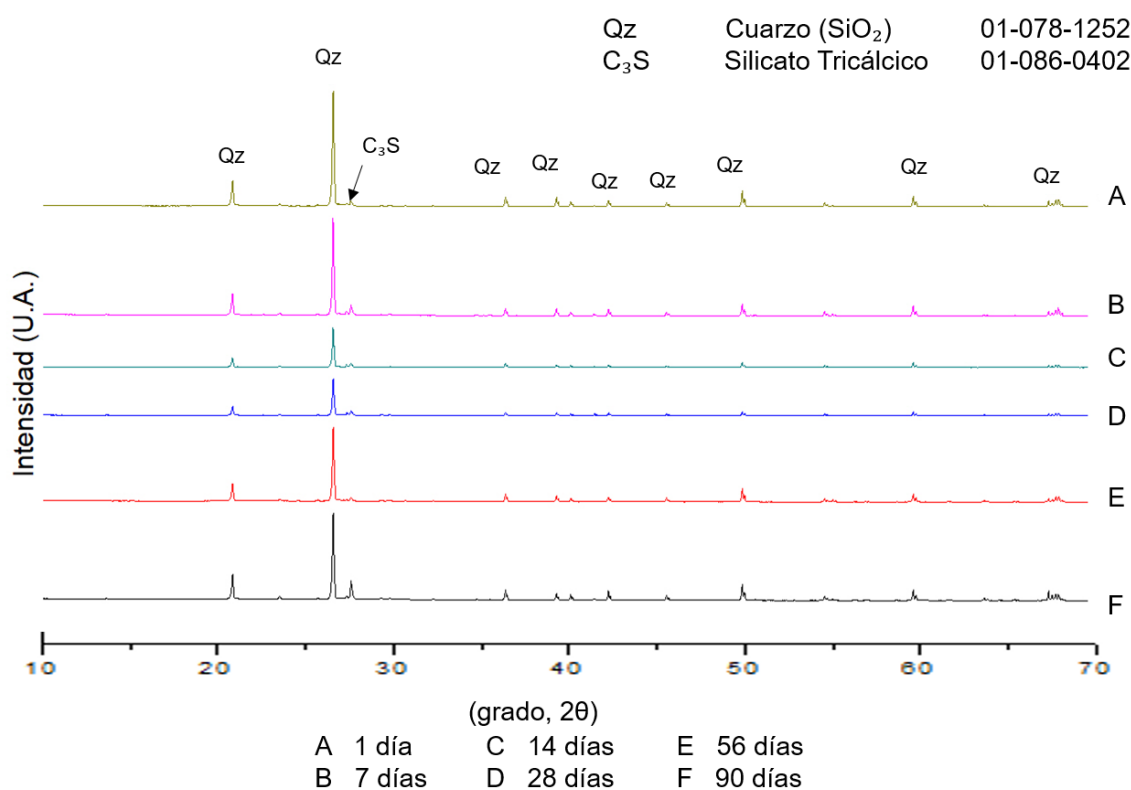


Figura 31. Análisis DRX de la MC del sistema HS/CPO con relación a/mc de 0.7 a diferentes edades.

Además, en la Figura 31 se indica con C (14 días), el difractograma del sistema HS/CPO cuando se tiene el valor de pH menor, siendo 9.49 y con A (1 día) cuando el valor de pH es mayor, siendo 11.64. En ambas difractogramas se encuentra el Qz presente, pero el pico de difracción del C_3S es menor a la edad A que en C. Lo anterior, pudiera ser explicado considerando que el contenido de CaO es menor a 1 día que a 14 días. En el día E (56 días) el pico de difracción de C_3S

se aprecia mucho menos que en el día F (90 días) y corresponde también con el análisis químico por FRX por la presencia de CaO.

La presencia de C_3S en las difracciones de la MC del sistema HS/CPO indica que existen partículas sin hidratar hasta los 90 días, de lo contrario se hubiera visto un cambio en la aparición de esta fase posterior al día 1. La evolución del pH a través del tiempo no parece tener un efecto representativo en la aparición de las fases más allá del pico del C_3S . Existe un cambio de la presencia del C_3S en los días 1 y 56 que puede evidenciarse en los análisis FRX con las concentraciones más bajas CaO. En las recomendaciones para trabajos futuros se propone elaborar más pruebas y estudiar si existe una relación entre la fase C_3S y CaO con el aumento del valor de pH.

4.2.3 Sistema de Anhidrita, Escoria de Alto Horno y Humo de Sílice (ANH/EAH/HS)

En la Figura 32 se puede observar la evolución de los valores de pH del sistema ANH/EAH/HS a diferentes edades. Se puede apreciar que ambas relaciones a/mc mostraron un comportamiento muy similar en sus curvas de pH desde el día 1 hasta el 90. Las curvas de la evolución de pH con ambas relaciones a/mc en el sistema ANH/EAH/HS presentaron una estabilidad aparente después del día 56. A diferencia de los sistemas CPO-100 y HS/CPO que mostraron cierta estabilidad a 14 y 28 días, respectivamente.

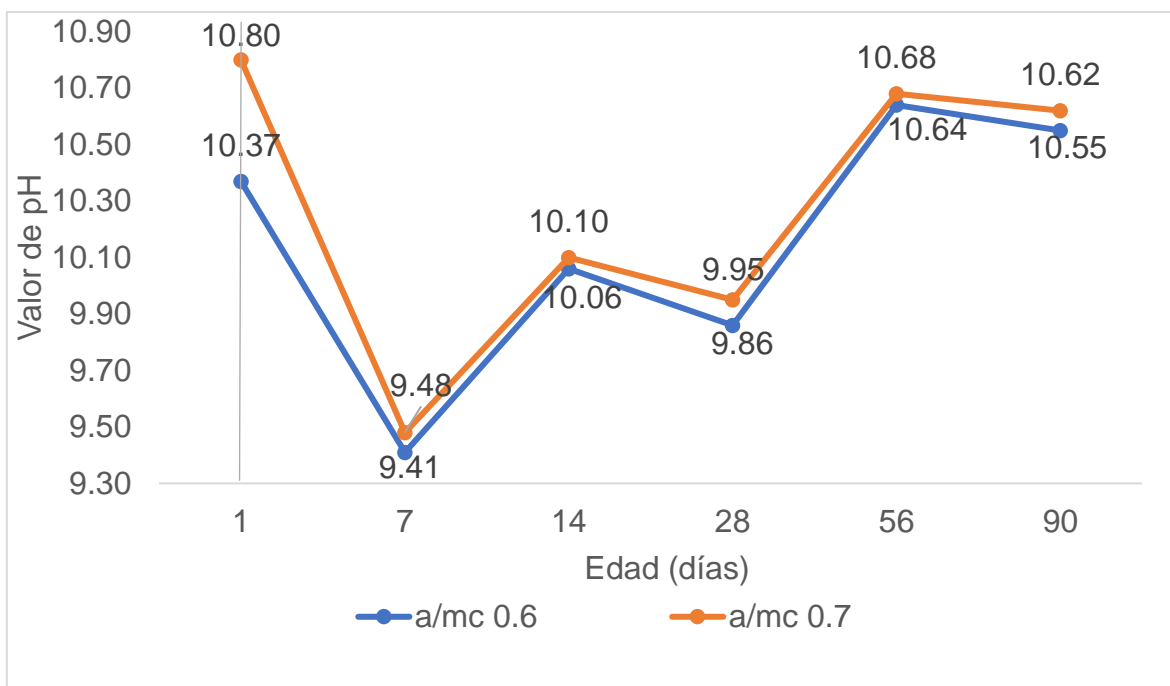


Figura 32. Evolución del pH en MC de ANH/EAH/HS a diferentes edades y relación a/mc.

Lo anterior, se pudiera explicar debido a que los cambios en la microestructura en MC base ANH continúan hasta en edades prolongadas posteriores a los 100 días [85,92]. Por lo que es muy probable que el valor de pH pudiera alcanzar el equilibrio después de los 100 días. En la sección de recomendaciones para trabajos futuros se hará la recomendación de dar seguimiento al pH a edades más prolongadas.

En la Figura 32 se pueden apreciar dos puntos mínimos del valor de pH en siendo el primero a 7 días y el segundo a 28 días con ambas relaciones a/mc. En el rango de 56 a 90 días se muestra un comportamiento similar en los valores de pH con ambas relaciones a/c. Hasta los 90 días de estudio la MC con relación a/mc 0.7 presentó un pH menor al día 1, a diferencia de la MC con relación a/mc 0.6. Por lo anterior, fue seleccionada la MC óptima con relación a/mc de 0.7. Se hizo la

inoculación a los 28 días de curado, debido a que a esa edad es la segunda caída de pH que tiene.

En la Tabla 16 se presenta un resumen de la evolución a diferentes edades de la composición química y de pH de la MC óptima del sistema ANH/EAH/HS. Se puede observar que los elementos en mayor proporción son el óxido de sílice (SiO_2), óxido de azufre (SO_3) y en menor proporción el óxido de calcio (CaO). Es importante señalar que el origen del SiO_2 es tanto de la arena sílica como del HS. El SO_3 y CaO en combinación generan el CaSO_4 cuyo origen es la ANH y otra fuente de CaO es la EAH.

Tabla 16. Composición química y condiciones de trabajo de los morteros del sistema ANH/EAH/HS.

Sistema	Edad (días)	% en peso										pH
		SiO_2	MgO	CaO	Al_2O_3	Fe_2O_3	Na_2O	K_2O	SO_3	TiO_2	Balance	
ANH/EAH/HS a/mc 0.6	1	56.34	0.41	12.24	1.76	0.24	-	1.40	27.46	0.11	0.04	10.37
	7	72.61	0.26	6.99	1.49	0.37	-	0.76	17.44	-	0.09	9.41
	14	71.04	0.29	7.88	1.79	0.19	-	1.02	17.70	-	0.10	10.06
	28	63.37	0.34	10.06	1.63	0.41	-	0.94	23.02	-	0.22	9.95
	56	68.88	0.35	8.53	1.86	0.18	-	1.05	19.01	-	0.15	10.68
	90	58.42	0.38	11.89	1.74	0.24	-	1.10	26.07	-	0.16	10.62

Las concentraciones de los elementos analizados por FRX no presentan una tendencia clara. Lo anterior, pudiera estar relacionado al hecho de que en 90 días no se pudo obtener un equilibrio en el valor de pH. La aparición de etringita en MC base ANH ha sido ampliamente estudiado a edades tardías. Sin embargo, no ha sido reportado la evolución de pH, ni tampoco la evolución en su composición química [85,92]. Debido a que la aparición de etringita en MC base ANH se

evidencia a edades prolongadas, es muy probable que la MC no alcance una estabilidad a edades tempranas.

En la Figura 33 se muestran los análisis por DRX de las fases presentes en el sistema ANH/EAH/HS. Se puede apreciar desde el día 1 la existencia de picos de SiO_2 en su fase cuarzo (Q) y de sulfato de calcio dihidratado en su fase yeso (Y). Lo anterior en común acuerdo con los estudios de FRX ya que los elementos constitutivos mayoritarios fueron SiO_2 y CaO . Las fases cristalinas encontradas coinciden con lo reportado por R.X. Magallanes-Rivera [92] en cuanto a la presencia de Y desde el día 1 al 90.

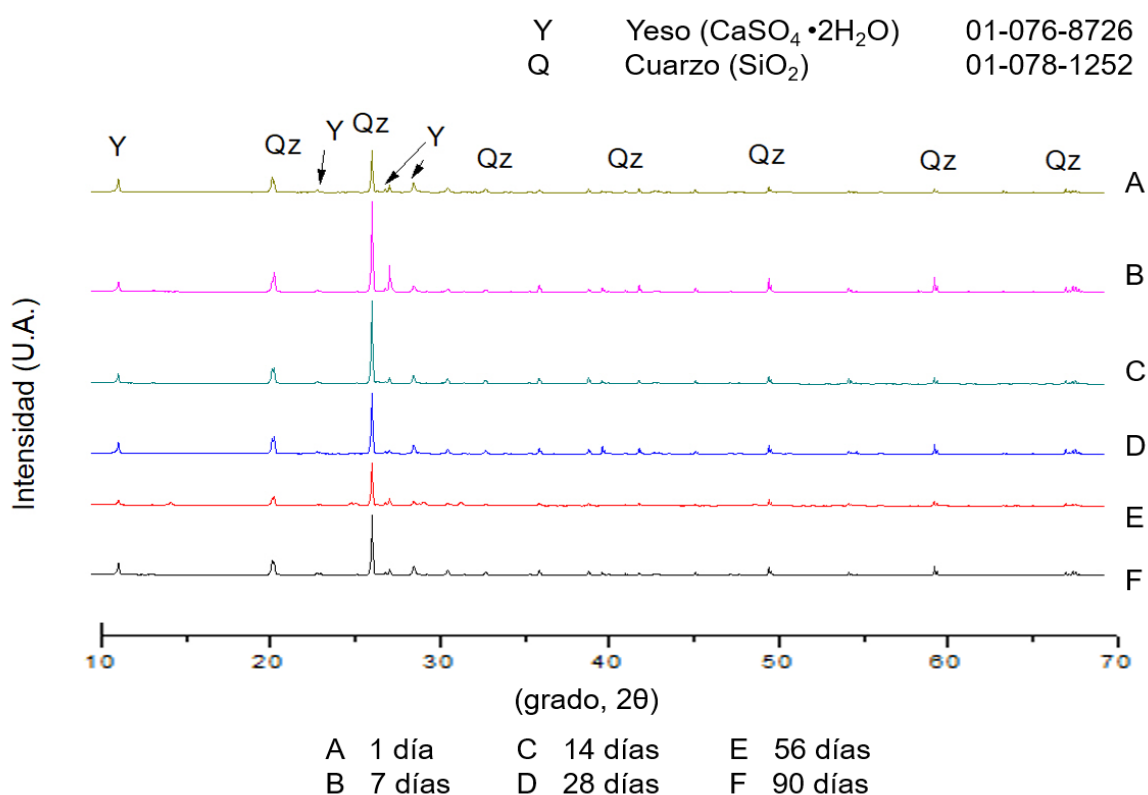


Figura 33. Análisis DRX de la MC del sistema ANH/EAH/HS con relación a/mc de 0.6 a diferentes edades.

4.2.4 Sistema de Cal Hidratada, Ceniza Volante y Cemento Portland Ordinario (CH/CV/CPO)

En la Figura 34 se muestran especímenes del sistema CH/CV/CPO con las relaciones a/mc de 0.6 y 0.7 después de haber sido sometidos a la prueba de la profundidad de carbonatación a 5 y 10 días de carbonatación acelerada de acuerdo a la Norma EN 13295 [77].

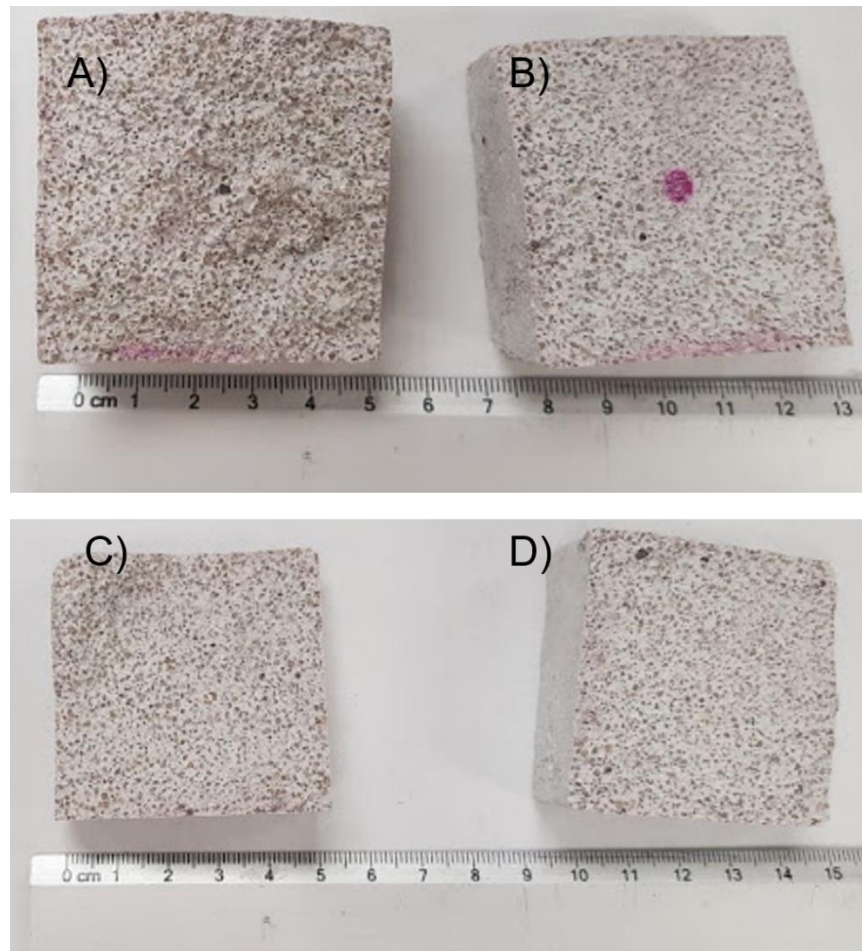


Figura 34. Prueba de la profundidad de carbonatación en el sistema CH/CV/CPO con relación a/mc y días de carbonatación acelerada, A) a/mc de 0.7 con 5 días, B) a/mc de 0.6 con 5 días, C) a/mc de 0.7 con 10 días y D) a/mc de 0.6 con 10 días.

Se puede observar que en la Figura 34 A) el espécimen con relación a/mc de 0.7 presenta una mayor profundidad de carbonatación de 24.2mm después de 5 días. En Figura 34 B) el espécimen con relación a/mc de 0.6 presenta una profundidad media de carbonatación de 22.6 mm de cada lado. Lo anterior coincide con la literatura debido a que a mayor relación a/mc es mayor el ingreso de CO₂ [156]. Lo anterior puede ser explicado debido a la diferencia de porosidad generada por la relación a/mc.

En la Figura 34 C) y Figura 34 D) se pueden apreciar los especímenes a las mismas condiciones de carbonatación acelerada después de 10 días. Se pudo observar una profundidad de la carbonatación del 100 % en las muestras con relaciones a/mc de 0.6 y 0.7. Por lo anterior, se decidió no continuar con la prueba a las edades de 15 y 20 días.

En la Figura 35 se puede observar la evolución del pH en el sistema CH/CV/CPO con relaciones a/mc de 0.6 y 0.7. Se presenta un comportamiento muy similar en las curvas de los valores de pH siendo los valores de pH más bajos con la relación a/mc de 0.7 en los 20 días de estudio. En el día 5 de carbonatación se obtuvo el valor mínimo de pH y el valor máximo a los 10 días, alcanzando entre el día 15 y 20 una estabilidad en los valores de pH.

Lo anterior coincide con la literatura ya que se ha reportado que a mayor relación a/mc la profundidad de carbonatación es mayor en sistemas ternarios [156]. Sin embargo, después del día 20 pudieran haberse presentado cambios en los valores de pH si se hubiera prolongado el tiempo de estudio.

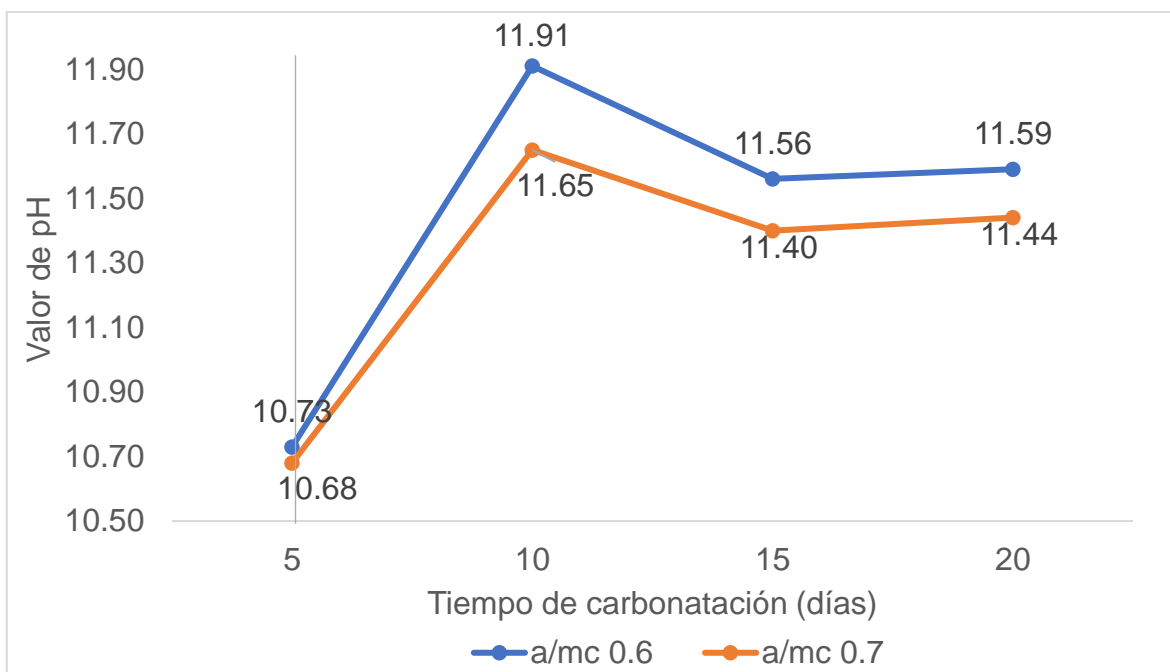


Figura 35. Efecto de la carbonatación a un 20% de CO₂ sobre el pH en el sistema CH/CV/CPO con relaciones a/mc de 0.6 y 0.7.

Es por eso que se eligió la MC óptima con relación a/mc de 0.7 y se decidió realizar la inoculación de los microorganismos en el sistema CH/CV/CPO después de 5 días de carbonatación bajo las mismas condiciones. En la Tabla 17 se puede observar la evolución a diferentes edades de la composición química por medio de la técnica de FRX de la MC óptima del sistema CH/CV/CPO.

Tabla 17. Composición química y condiciones de trabajo de los morteros del sistema CH/CV/CPO.

Sistema	T.C. (días)	% en peso										pH
		SiO ₂	MgO	CaO	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	Na ₂ O	K ₂ O	SO ₃	TiO ₂	Balance	
CH/CV/CPO a/mc 0.7 20%CO₂	5	86.39	0.27	8.57	2.64	0.39	-	0.90	0.67	-	0.16	10.68
	10	75.85	0.18	18.02	2.42	0.86	-	1.58	0.97	-	0.12	11.65
	15	79.45	0.16	15.06	2.25	0.71	-	1.42	0.83	-	0.11	11.40
	20	73.25	0.23	19.85	2.68	0.91	-	1.77	1.18	-	0.12	11.44

*T.C. Tiempo de Carbonatación

Se muestra en mayor proporción compuestos de óxido de silicio (SiO_2), óxido de calcio (CaO) y en menor proporción de óxido de aluminio (Al_2O_3). El SiO_2 que es de los principales componentes, muy probablemente proviene de la arena silica y de la CV. Las concentraciones de CaO y Al_2O_3 provienen tanto de la CH, así como del CPO. Al analizar la evolución de los elementos alcalinos posterior a la carbonatación acelerada se evidencia que existen cambios en el contenido de CaO y del óxido de potasio (K_2O) dentro de la MC.

A 5 días de carbonatación se obtuvo el valor de pH más bajo y pudiera deberse a que se tiene la mayor concentración de SiO_2 con un 86.39% en peso y de CaO con 8.57% en peso en comparación a los demás días de carbonatación. A los 10 días el pH aumenta a 11.91, así como la concentración del CaO y la concentración de SiO_2 disminuye.

Es importante hacer notar que cuando el pH logra estabilizarse después del día 15, se puede observar una variación en las concentraciones de CaO y del SiO_2 . Sin embargo, a 20 días de carbonatación el pH se mantiene casi estable con respecto al día 15 y el contenido de CaO aumenta y el SiO_2 disminuye.

En la Figura 36 se presenta el análisis DRX de las MC del sistema CH/CV/CPO a los diferentes días de carbonatación y en donde se puede observar que existen dos fases del óxido de sílice (SiO_2) como la moganita (M) y la cristobalita (Crs). Además, se encuentran presente picos característicos de hidróxido de calcio [$\text{Ca}(\text{OH})_2$] en su fase Portlandita (P) y carbonato de calcio (CaCO_3) en su fase calcita (C). Cabe resaltar que la fase C y M crecen observándose picos más definidos entre el día 5 y el día 20 y pudiera deberse al tiempo de carbonatación.

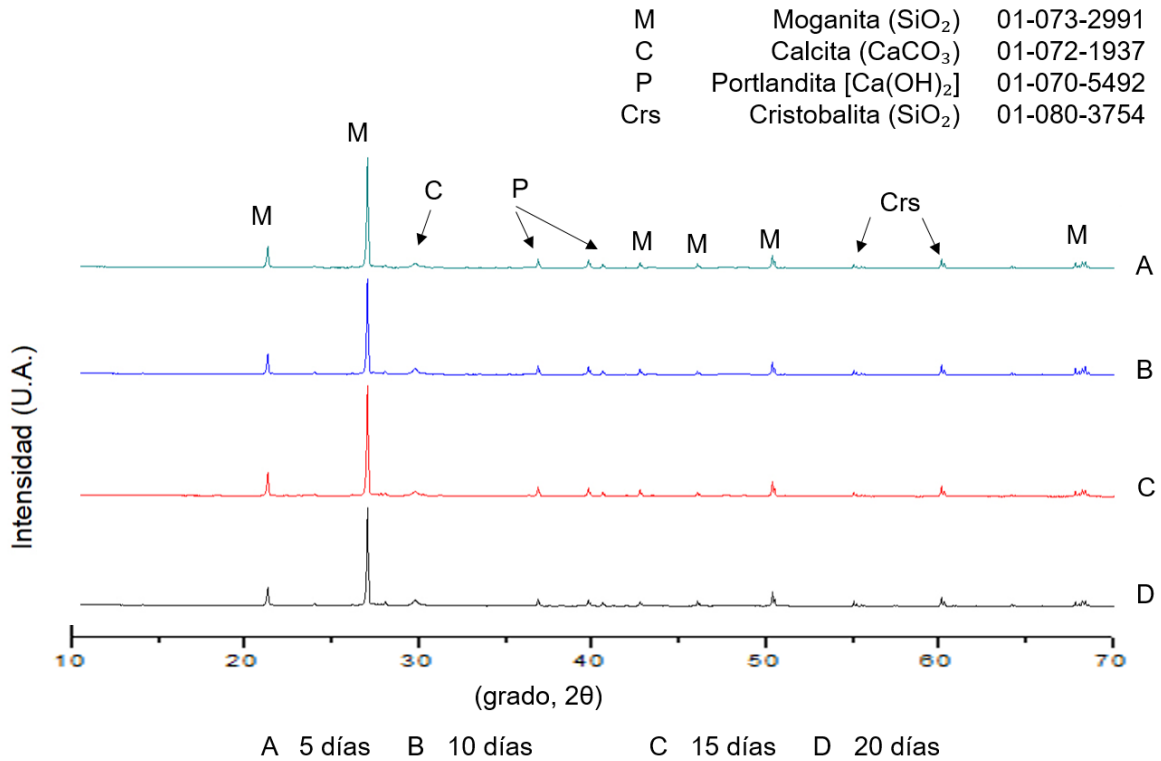


Figura 36. Fases cristalinas presentes en la MC de CH/CV/CPO con relación a/mc de 0.7 a diferentes edades.

4.3 Crecimiento de las Microalgas

Fue importante conocer el tiempo de crecimiento de las micro algas en sus condiciones ideales para después hacer una comparativa sobre los especímenes inoculados. El crecimiento del *Csc-1* no fue posible determinarse debido a que el método directo no fue el adecuado para su morfología. En la Figura 37 se muestra la morfología de las microalgas *C. vulgaris*, *Spirulina* y del *Csc-1*.

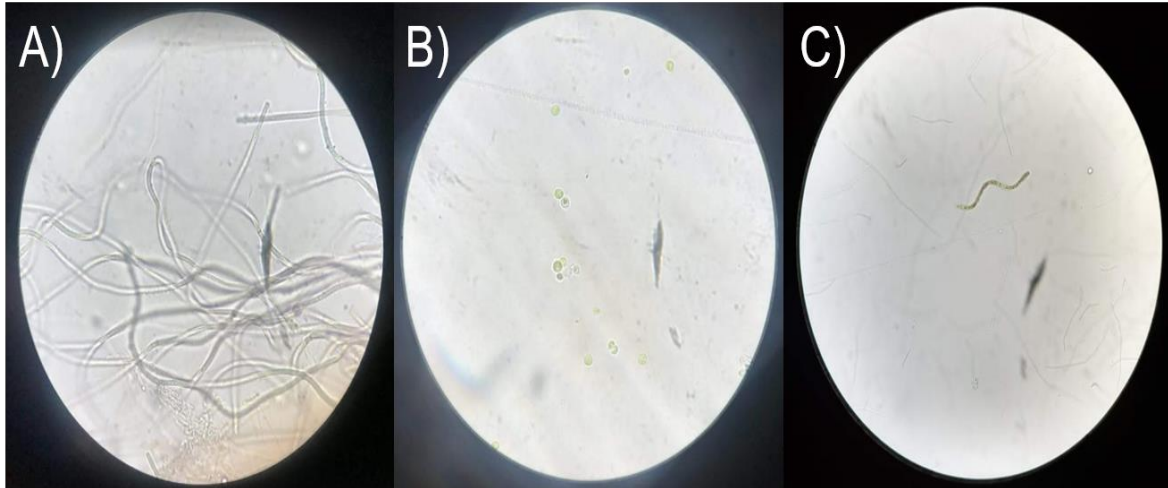


Figura 37. Micrografía del microalgas a 40X: A) Csc-1, B) C. vulgaris y C) Spirulina.

En la Figura 37 A) se muestra la morfología del Csc-1 después de 28 días de producción de biomasa. En la Figura 37 B) se puede apreciar la morfología de la microalga *C. vulgaris* y en donde se puede observar células de color verde que poseen una forma esférica sin filamentos a diferencia del Csc-1. En la Figura 37 C) se muestra la morfología de la microalga *Spirulina* y se aprecia que presenta una coloración verde, además de ser filamentosa y de forma de helicoidal.

En la Figura 38 se muestra la información del crecimiento de la microalga *C.vulgaris*. La curva presenta un comportamiento típico, ya que dentro de los primeros 10 días el crecimiento es lento debido a la fase de incubación hasta alcanzar la fase exponencial. Se alcanza su valor máximo de crecimiento en el día 36 y después la curva decrece hasta alcanzar un mínimo el día 52, posteriormente se comienza a ver una curva creciente hasta el día 60. De lo anterior, se puede resumir que el crecimiento de la microalga *C. vulgaris* alcanza su máximo desarrollo entre los días 36 y 40.

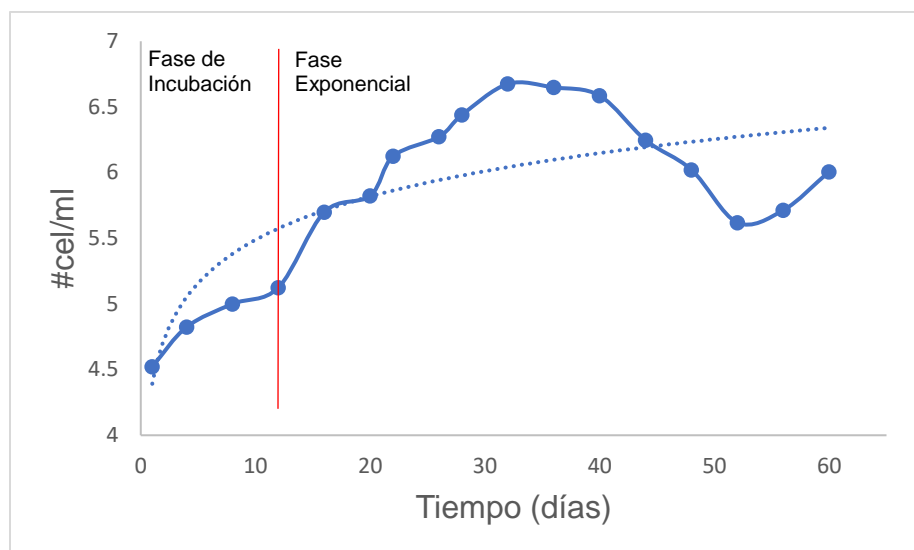


Figura 38. Gráfica del crecimiento de la microalga *C. vulgaris*.

En la Figura 39 se muestra la curva de crecimiento de la microalga *Spirulina* en donde nuevamente se puede observar un periodo de incubación en los primeros 10 días. Posteriormente, se presentan dos puntos máximos en los días 16 y 26 con mínimos los días 22 y 36, respectivamente. En el día 36 se observa el valor mínimo más bajo y después la curva presenta un comportamiento creciente hasta el día 60 aproximadamente.

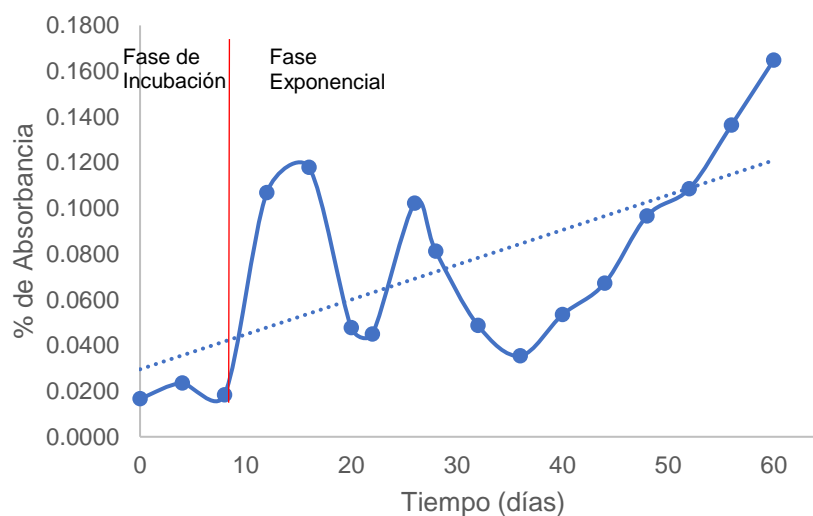


Figura 39. Gráfica del crecimiento de la microalga *Spirulina*.

Si se consideran las curvas de crecimiento de las microalgas *C. vulgaris* y *Spirulina* de la Figura 38 y Figura 39 respectivamente, se puede resumir que el desarrollo máximo de la microalga *C.vulgaris* se da a los primeros 36 días y para la microalga *Spirulina* después del día 36 a condiciones óptimas. De lo anterior, se pudo determinar que el tiempo de inoculación más adecuado en los especímenes para lograr una buena colonización y crecimiento de las microalgas se da a los 35 días o a 5 semanas.

4.4 Método de Inoculación y Extractante Óptimo de clorofila “a” (Chl “a”)

Los métodos de inoculación evaluados fueron de goteo y contacto con el medio y los extractantes evaluados fueron DMSO, metanol, etanol y acetona. En la Figura 40 se muestran los resultados de la prueba preliminar de evaluación de los métodos de inoculación y extractante óptimo.

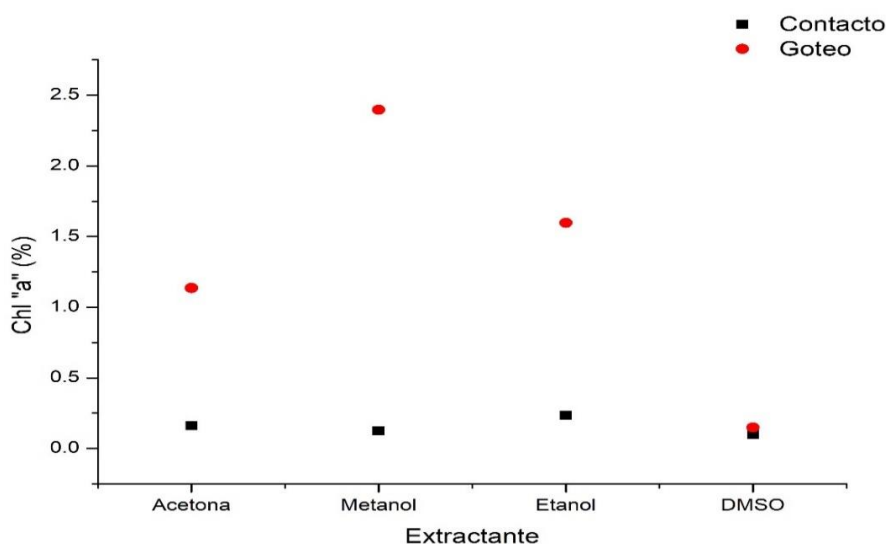


Figura 40. Extracción de la clorofila en función del medio, inoculación y extractante.

El método de inoculación óptimo fue el de goteo al presentar valores superiores de porcentaje de Chl “a” en todos los extractantes siendo el más alto con metanol y el más bajo con DMSO. Lo anterior muy probablemente pudiera haberse debido a la diferencia de volumen que se utilizó en cada uno de los extractantes para elaborar la prueba. De los resultados anteriores, se pudo determinar que el método de inoculación óptimo fue por goteo y el extractante óptimo el metanol. Con base en estos resultados fue diseñado un sistema de inoculación por goteo para todos los especímenes de los sistemas propuestos en esta investigación.

4.5 Colonización Apparente de las Matrices Cementantes

Una vez seleccionada la MC óptima de cada uno de los sistemas desarrollados y su inoculación, se procedió a valorar la bio-receptividad de cada uno de ellos por medio de la colonización aparente de las microalgas.

4.5.1 Sistema de Referencia Cemento Portland Ordinario (CPO-100)

El sistema de referencia CPO-100 presentó un valor de pH de 12.32 muy superior a los sistemas HS/CPO, CH/CV/CPO y ANH/EAH/HS. Este sistema se esperaba más favorable para el desarrollo de las microalgas *Spirulina* y *Csc-1* y en menor grado para la microalga *C. vulgaris*. Lo anterior, debido a que la primera es alcalófila, la segunda proviene de una estructura de concreto y la última es neutrófila, respectivamente.

En la Figura 41 se muestra un arreglo comparativo de los especímenes inoculados por las microalgas, *C. vulgaris*, *Spirulina* y el *Csc-1* en el sistema de referencia CPO-100. Se puede apreciar que la colonización de las microalgas *C. vulgaris*, *Spirulina* y el *Csc-1* tuvo su inicio desde la semana 1. Además, se puede observar que aparentemente la microalga que comienza a colonizar más rápido al sistema de referencia CPO-100 es la microalga *C. vulgaris*, seguido de la microalga *Spirulina* y por último el *Csc-1*.



Figura 41. Evolución de la colonización de las microalgas *C. vulgaris*, *Spirulina* y *Csc-1* en el sistema CPO-100.

Se puede apreciar que el desarrollo de las microalgas *C. vulgaris* y *Spirulina* en la MC fue similar en condiciones ideales. Es decir, se puede definir una etapa de incubación y posteriormente la fase exponencial. Es importante mencionar

que en el caso del Csc-1 la fase de incubación tiene un periodo más largo que en las microalgas *C. vulgaris* y *Spirulina*.

S. Manso y col. [11] reportaron que en la inoculación de la microalga *C.vulgaris* en un sistema base CPO no se pudo formar una bio-película durante un tiempo de exposición de 10 semanas. Lo anterior, difiere de lo obtenido con esta misma microalga sobre la superficie del sistema CPO-100 en este proyecto de investigación. Además, fueron tomadas micrografías en el MEB con la finalidad de evaluar más a detalle la formación de la bio-película sobre los especímenes.

4.5.1.1 Colonización de la Microalga *Chlorella vulgaris* (*C. vulgaris*) en el Sistema de Referencia Cemento Portland Ordinario (CPO-100)

De la inoculación de la microalga *C. vulgaris* se pudo generar una bio-película de manera aparente sobre especímenes del sistema CPO-100 en un tiempo de 5 semanas. En la Figura 42 A) se muestra el espécimen de referencia sin inoculación y en donde se puede observar el acabado rugoso de la superficie el cual está formado por los granos del agregado fino que presentan una morfología de tipo angular.

En la Figura 42 B) se observa una muestra después de 1 semana de inoculación. Además, se pueden apreciar regiones que empiezan a ser pobladas sobre la superficie. En la Figura 42 C) se muestra el espécimen a 3 semanas de haber sido inoculado y se presentan pequeñas células nuevas de la microalga *C. vulgaris* que empiezan a establecerse sobre la bio-película ya existente.

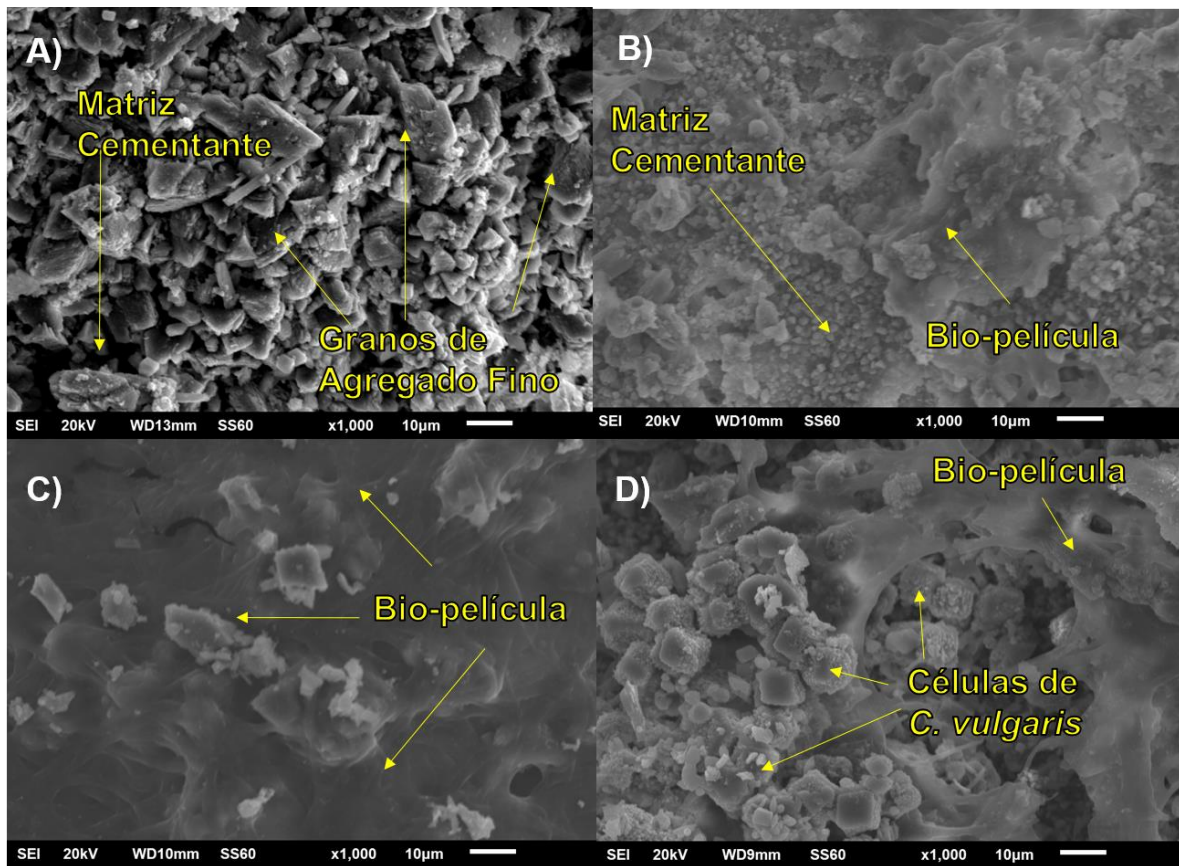


Figura 42. Evolución de la colonización de la microalga *C. vulgaris* sobre el sistema CPO-100: A) Sin inocular, tiempo de inoculación de B) 1 semana, C) 3 semanas y D) 5 semanas.

En la Figura 42 D) se muestra una micrografía después de 5 semanas de haber sido inoculado donde se puede apreciar asentamientos de células nuevas. Es probable que la rugosidad aparente que se pudo obtener en el sistema CPO-100 pudiera haber contribuido a la formación de bio-película de la microalga *C. vulgaris* a pesar de su alto valor de pH ≈ 12 . De lo anterior, se pudiera afirmar que de continuar con el tiempo de inoculación se continuaría con el desarrollo y crecimiento de la bio-película.

4.5.1.2 Colonización de la Microalga *Spirulina* en el Sistema de Referencia Cemento Portland Ordinario (CPO-100)

En la Figura 43 se puede observar el desarrollo durante 5 semanas de la bio-película formada por la microalga *Spirulina* sobre la MC del sistema CPO-100. En la Figura 43 A) se presenta la micrografía de la muestra sin inocular como referencia.

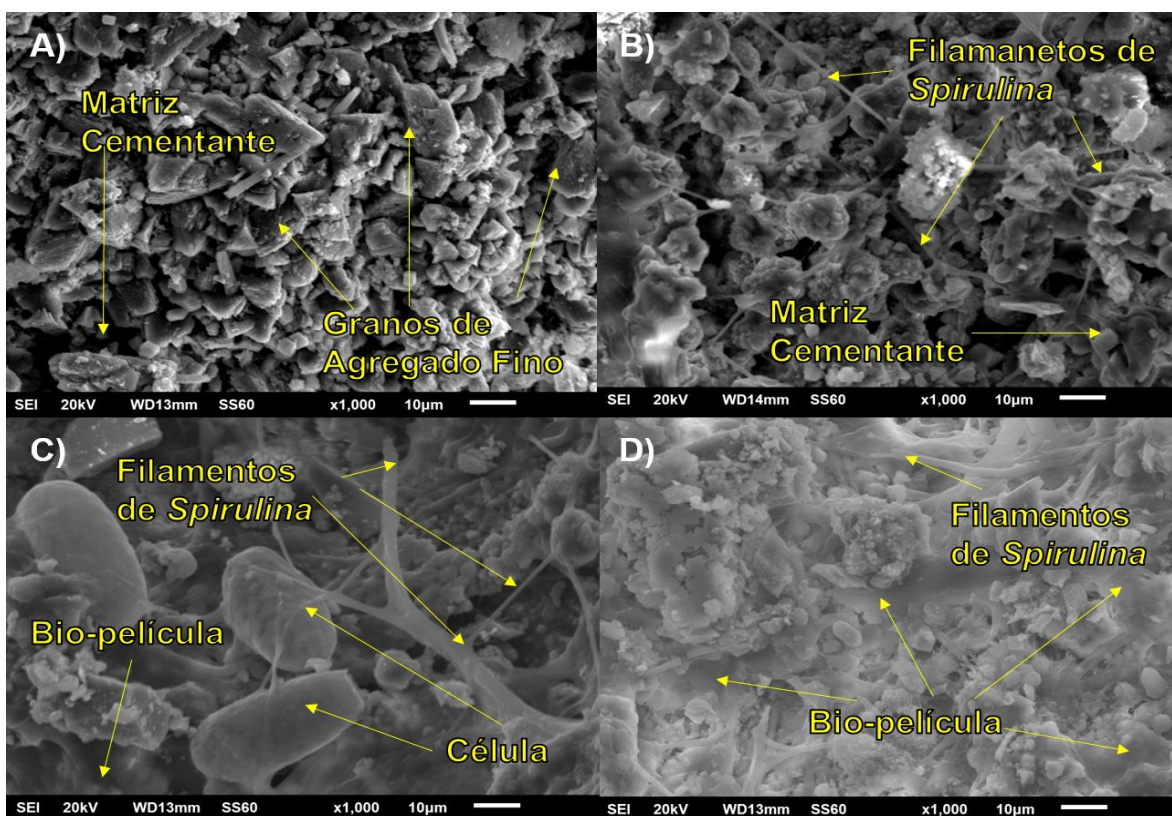


Figura 43. Evolución de la colonización de la microalga *Spirulina* sobre las MC del sistema CPO-100: A) Sin inocular, tiempo de inoculación de B) 1 semana C) 3 semanas y D) 5 semanas.

En la Figura 43 B) se muestran algunos filamentos característicos de la morfología de la microalga *Spirulina*, los cuales están comenzando a cubrir la superficie de la MC. En la Figura 43 C) después de 3 semanas de inoculación se

aprecian tres células con una morfología de tipo ojiva de la cual se desconoce su origen, enlazados por filamentos de mayor grosor de la microalga *Spirulina* formando redes con las células ojivales sobre la bio-película.

En la Figura 43 D) después de 5 semanas de inoculación se muestra la formación de la bio-película de manera continua y en donde sobresalen los filamentos de la microalga *Spirulina*. La bio-película formada en el sistema CPO-100 está compuesta por la microalga *Spirulina* y por otra microalga que se desconoce su identidad u origen. Sin embargo, el ambiente generado por la MC fue adecuado para que ambas interactuaran y se desarrollaran considerando el valor de pH y la rugosidad aparente.

4.5.1.3 Colonización del Consorcio de Microalgas 1 (Csc-1) en el Sistema de Referencia Cemento Portland Ordinario CPO-100

En Figura 44 se muestran las micrografías de los especímenes del sistema de referencia CPO-100 a diferentes semanas de inoculación por el Csc-1. En la Figura 44 A) se presenta la micrografía del espécimen sin haber sido inoculado o de referencia. En la Figura 44 B) se aprecia una muestra después de haber sido inoculada por 1 semana con pequeñas secciones en las que ya fue desarrollada la bio-película.

En la Figura 44 C) y después de tres semanas de inoculación se pueden observar células de forma esférica que forman la bio-película. En la Figura 44 D) después de 5 semanas de inoculación se puede apreciar la formación de células nuevas que cubren en mayor parte la superficie de la muestra. Además, se puede

observar una fractura de la bio-película después de haber sido sometida a la prueba de extracción de la clorofila.

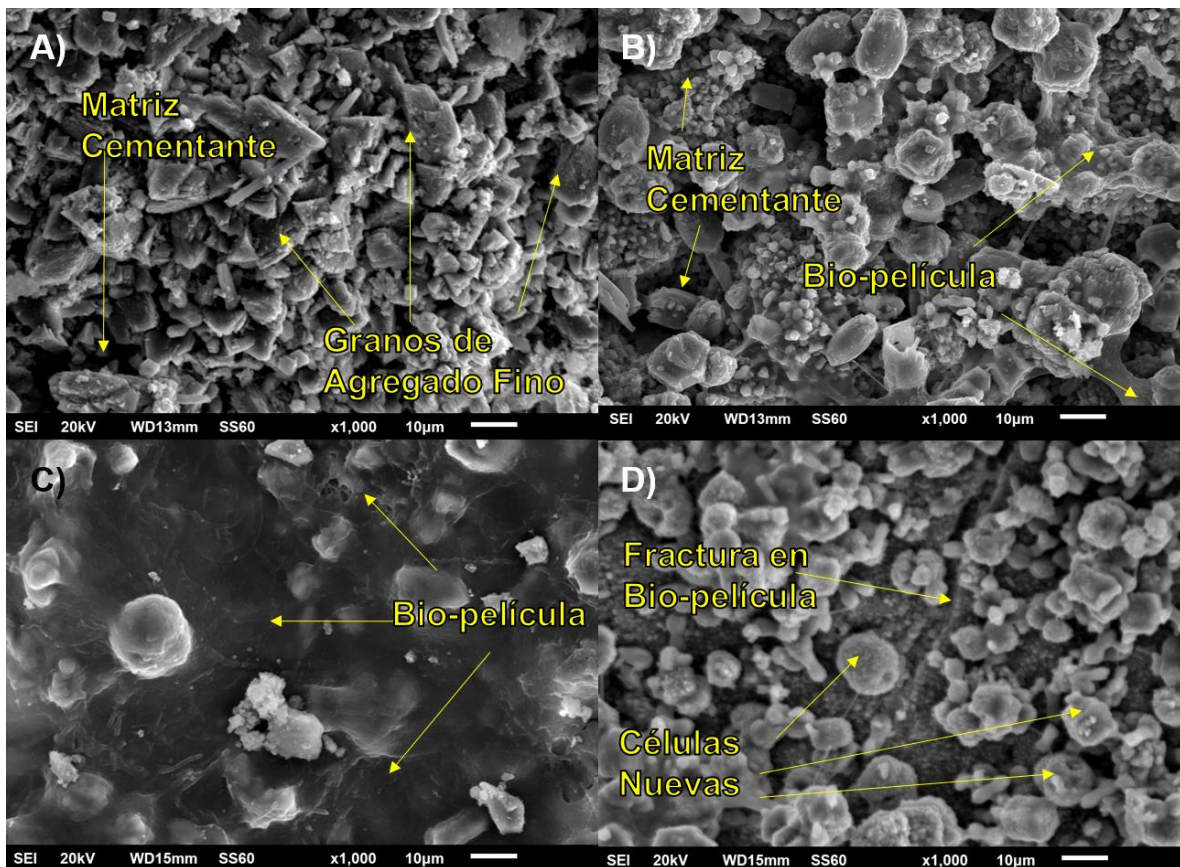


Figura 44. Evolución de la colonización del Csc-1 sobre las MC del sistema CPO-100: A) Sin inocular, tiempo de inoculación de B) 1 semana C) 3 semanas y D) 5 semanas.

De lo anterior, se pudiera decir que el Csc-1 es ciertamente un consorcio de microalgas debido a que está compuesto por dos microalgas con morfología diferente. Se pudo observar en la Figura 37 A) que la morfología del Csc-1 era de filamentos lo que contrasta con la morfología esférica de la Figura 44 D) formado en el sistema CPO-100. Por lo que se puede determinar que el sistema CPO-100 es bio-receptivo a la microalga de tipo esférica del Csc-1. Lo cual pudiera atribuirse al

valor de pH ≈ 12 el cuál es el más óptimo para el crecimiento de la de morfología esférica en comparación a la de filamentos. De haberse continuado con la inoculación del *Csc-1* en los especímenes del sistema CPO-100, muy probablemente la formación de la bio-película se apreciaría a simple vista.

4.5.2 Sistema de Humo de Sílice y Cemento Portland Ordinario (HS/CPO)

El sistema HS/CPO presentó a los 14 días un valor de pH de 9.5, siendo el más bajo en comparación a los demás sistemas de este estudio. Por lo anterior, se esperaba una colonización más favorable para la microalga *C. vulgaris*, que para las microalgas *Spirulina* y *Csc-1*. En la Figura 45 se muestra la evolución de la colonización de cada uno de los especímenes del sistema HS/CPO por las tres microalgas. Las microalgas *C. vulgaris* y *Spirulina* presentaron el mismo comportamiento que en el sistema de referencia CPO-100. Es decir, un periodo de incubación desde la semana 1 a la 3 y la fase de crecimiento exponencial de la semana 4 a la 5.

A simple vista se puede observar que la microalga *C. vulgaris* desarrolló más su bio-película que las microalgas *Spirulina* y *Csc-1*. Lo anterior era de esperarse debido a que los valores de pH fueron más cercanos al óptimo de la microalga *C.vulgaris* [49]. Además, se pudo observar que el *Csc-1* presentó un periodo de incubación mayor a las microalgas *C. vulgaris* y *Spirulina*.

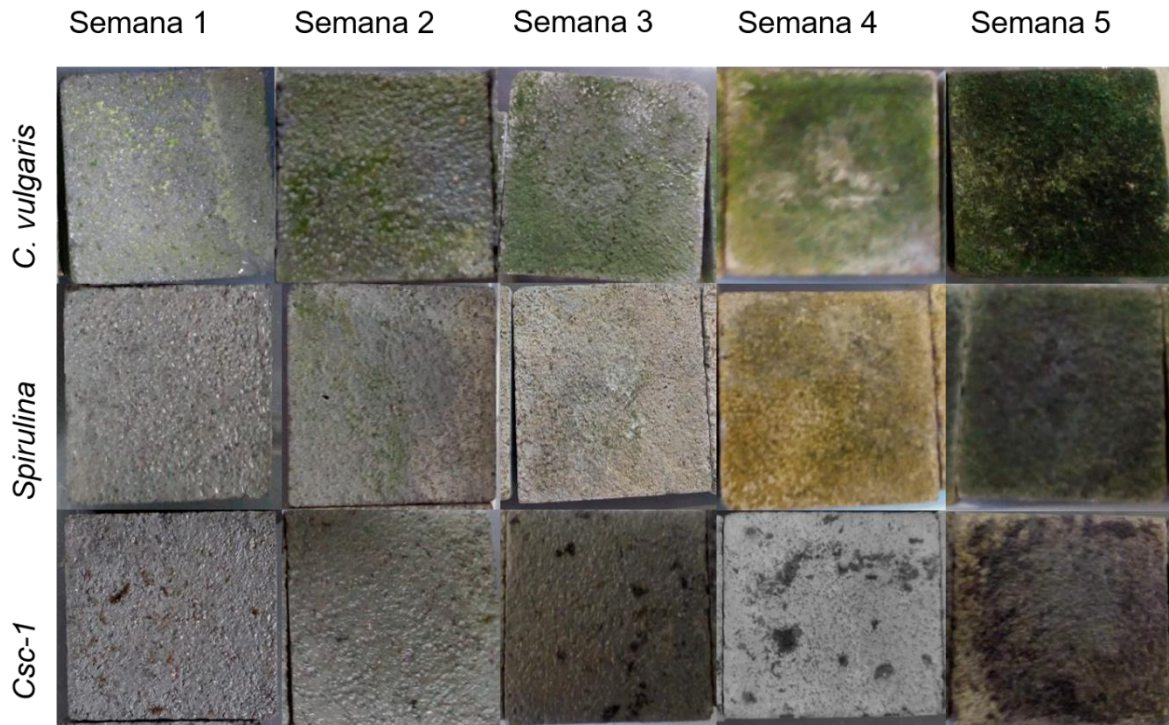


Figura 45. Evolución de la colonización de las microalgas *C. vulgaris*, *Spirulina* y *Csc-1* en el sistema HS/CPO.

4.5.2.1 Colonización del Microalga *Chlorella vulgaris* (*C. vulgaris*) en el Sistema Humo de Sílice y Cemento Portland Ordinario (HS/CPO)

En la Figura 46 se muestra el desarrollo a 5 semanas de la microalga *C. vulgaris* después de haber inoculado especímenes del sistema HS/CPO. En la Figura 46 A) se muestra la MC de referencia sin haber sido inoculada donde aún se pueden apreciar granos del agregado fino. En la Figura 46 B) después de 1 semana de inoculación se puede apreciar la formación de una bio-película que recubre una parte de la MC.

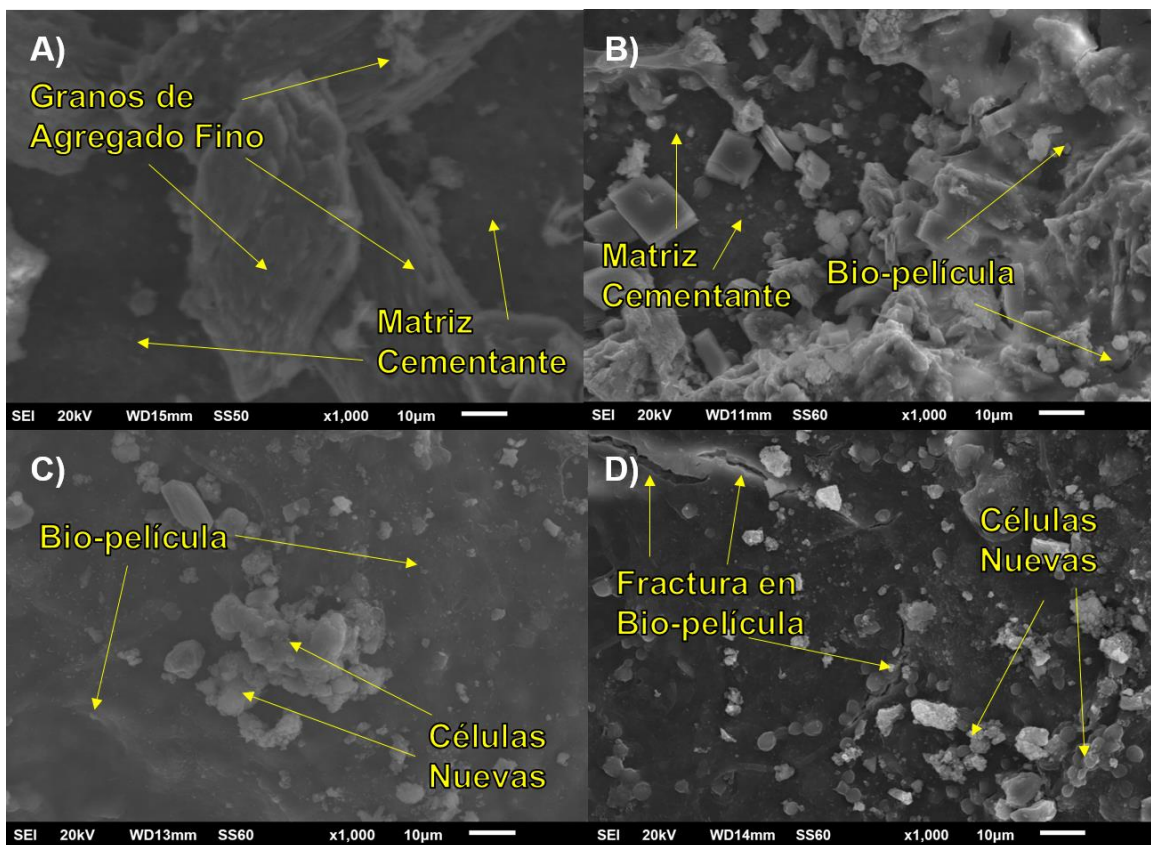


Figura 46. Evolución de la colonización de la microalga *C. vulgaris* sobre las MC del sistema HS/CPO: A) Sin inocular, tiempo de inoculación de B) 1 semana C) 3 semanas y D) 5 semanas.

En la Figura 46 C) después de 3 semanas de inoculación se aprecia una bio-película más densa y oscura que en la Figura 46 B). En la Figura 46 D) y después de 5 semanas de inoculación se muestra una fisura en la bio-película sometida a la prueba de extracción de la clorofila. De lo anterior, se pudiera concluir que la microalga *C. vulgaris* pudo desarrollar una bio-película en el sistema HS/CPO muy probablemente por tener un valor de $\text{pH} \approx 10$.

4.5.2.2 Colonización de la Microalga *Spirulina* en el Sistema Humo de Sílice y Cemento Portland Ordinario (HS/CPO)

El desarrollo del microalga *Spirulina* se dio de manera favorable sobre los especímenes del sistema HS/CPO. En la Figura 47 A) se muestra la MC de referencia en su estado natural sin inoculación. En la Figura 47 B) se presenta el espécimen después de haber sido inoculado durante 1 semana.

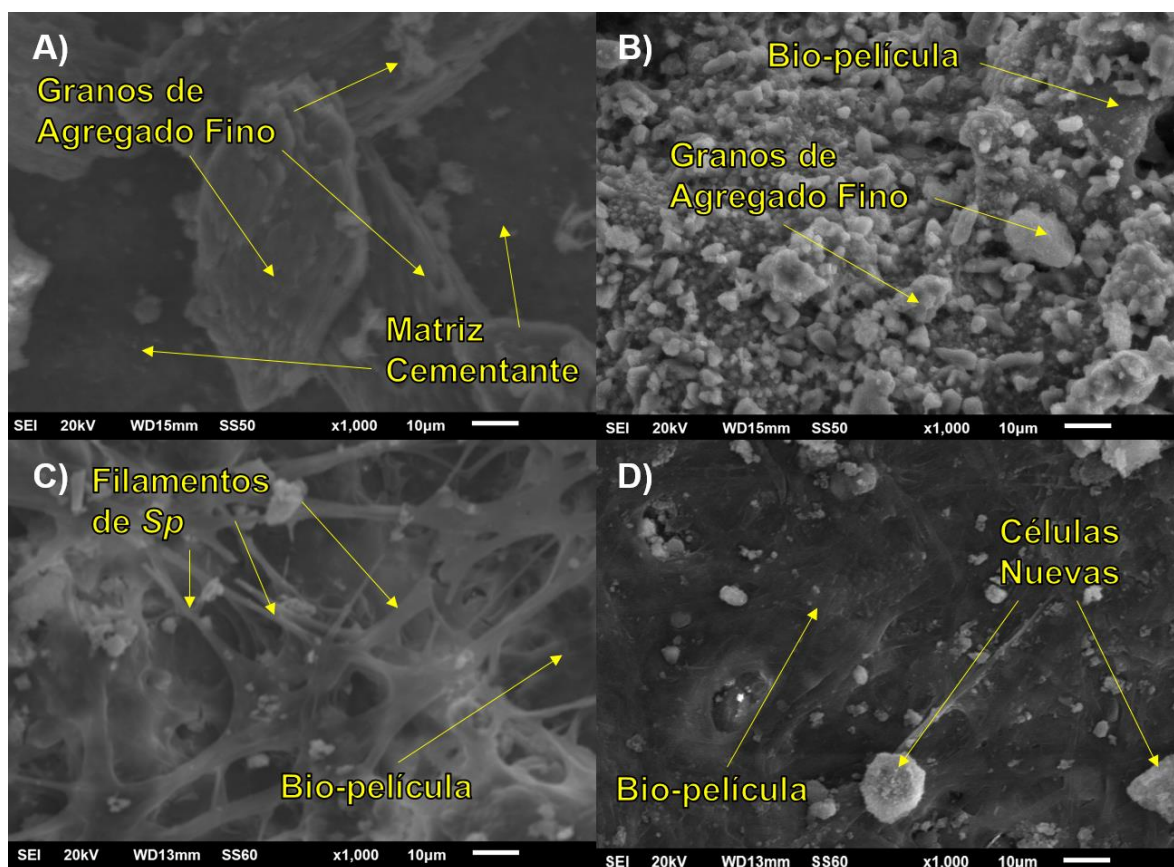


Figura 47. Evolución de la colonización de la microalga *Spirulina* sobre las MC del sistema HS/CPO: A) Sin inocular, tiempo de inoculación de B) 1 semana C) 3 semanas y D) 5 semanas.

En la Figura 47 C) se presenta una muestra posterior a la inoculación de la microalga *Spirulina* por 3 semanas. Es importante señalar que sobresalen los

filamentos característicos de la microalga *Spirulina*. En la Figura 47 D) se muestra el asentamiento de células de morfología esférica después de haber sido inoculado por 5 semanas.

La formación de la bio-película de la microalga *Spirulina* en el sistema HS/CPO está constituida por dos tipos de microalga y de manera similar en el sistema CPO-100. Sin embargo, el ambiente generado en el sistema HS/CPO aparentemente es menos favorable para aquella con morfología esférica debido a que se aprecia en menor proporción.

4.5.2.3 Colonización del Consorcio de Microalgas 1 (Csc-1) en el Sistema Humo de Sílice y Cemento Portland Ordinario (HS/CPO)

En la Figura 48 se muestran las micrografías de la inoculación del Csc-1 al sistema HS/CPO. En la Figura 48 A) se muestra la MC de referencia del sistema HS/CPO previo a la inoculación. En la Figura 48 B) se presenta la micrografía después de 1 semana de inoculación. Se pueden observar dos morfologías diferentes del Csc-1 con filamentos y células esféricas agrupadas entre ellas.

En la Figura 48 C) se presenta una muestra de 3 semanas de inoculación y en la bio-película se continúan apreciando las dos morfologías tanto la esférica y la filamentosa típicas del Csc-1. Sin embargo, las células de forma esférica se muestran aparentemente en menor proporción.

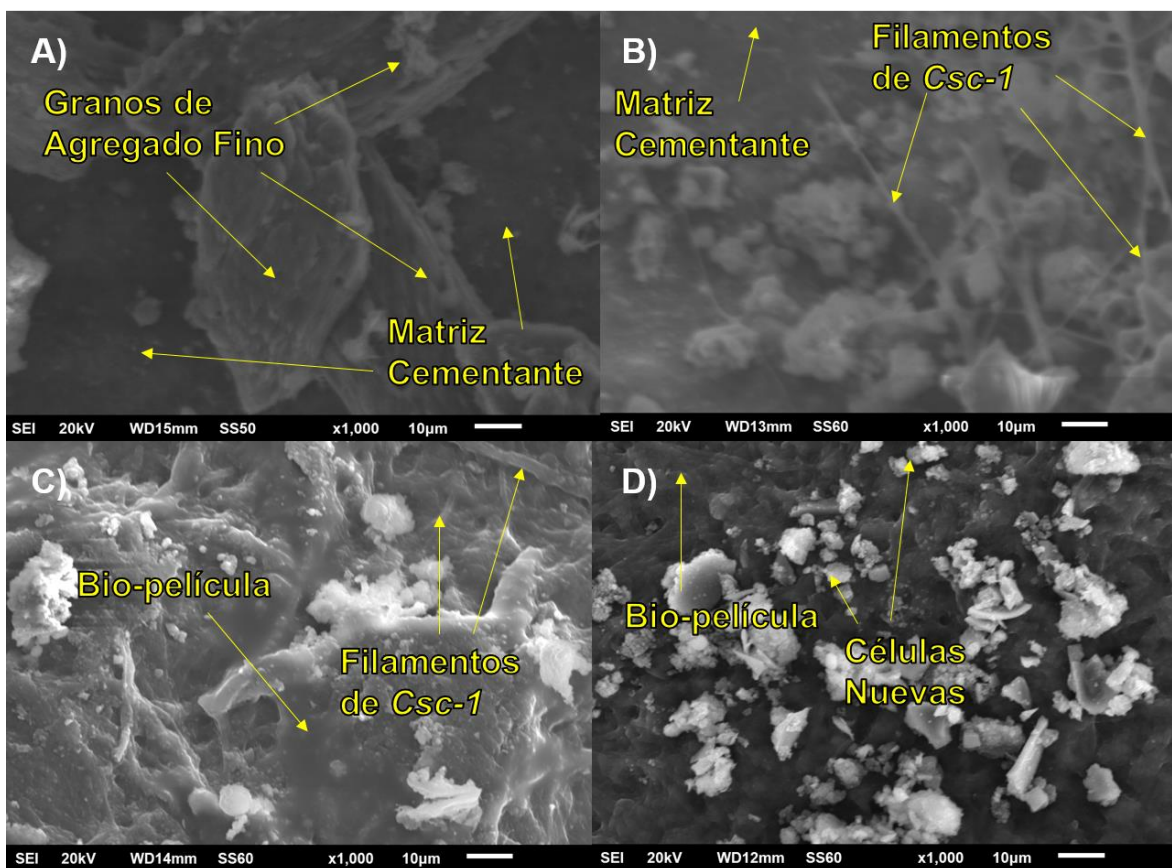


Figura 48. Evolución de la colonización del Csc-1 sobre las MC del sistema HS/CPO: A) Sin inocular, tiempo de inoculación de B) 1 semana C) 3 semanas y D) 5 semanas.

En la Figura 48 D) después de 5 semanas de inoculación se puede observar el crecimiento continuo de la bio-película, así como la formación de nuevas células. El ambiente generado en los especímenes de HS/CPO es adecuado para el desarrollo de las dos microalgas típicas del Csc-1. Es importante mencionar que muy probablemente la bio-película del Csc-1 se apreciaría más densa a simple vista de haberse prologando el tiempo de inoculación.

4.5.3 Sistema de Cal Hidratada, Ceniza Volante y Cemento Portland Ordinario (CH/CV/CPO)

En la Figura 49 se muestra la evolución de la colonización al sistema CH/CV/CPO por las tres microalgas, *C. vulgaris*, *Spirulina* y el *Csc-1*. A simple vista, se puede apreciar que la fase de incubación de las microalgas *C. vulgaris*, *Spirulina* y el *Csc-1* fue de la semana 1 a la 2 y la fase exponencial de su crecimiento fue de la semana 3 hasta la 5.

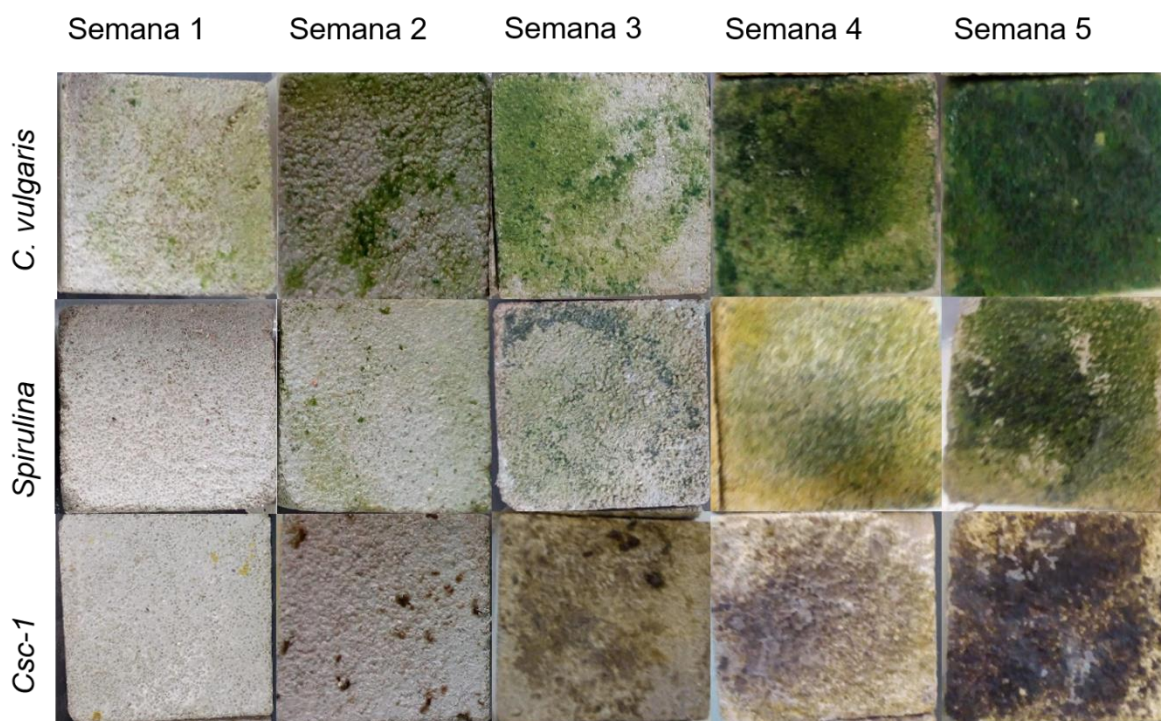


Figura 49. Evolución de la colonización de las microalgas *C. vulgaris*, *Spirulina* en el sistema CH/CV/CPO.

Es importante mencionar que el desarrollo del *Csc-1* fue muy similar a las microalgas *C. vulgaris* y *Spirulina* en el sistema CH/CV/CPO en lo que se refiere a las etapas de incubación y crecimiento exponencial. Sin embargo, el comportamiento del *Csc-1* no fue el mismo que en los sistemas CPO-100 y

HS/CPO. Por lo que se puede decir que en el sistema CH/CV/CPO solo fueron necesarias 3 semanas para que el *Csc-1* pudiera presentar su etapa de crecimiento exponencial dentro de la colonización de la MC. Por otro lado, a simple vista fue muy favorable el comportamiento de la colonización de la microalga *C. vulgaris* en el sistema CH/CV/CPO como en los sistemas CPO-100 y HS/CPO.

4.5.3.1 Colonización de la Microalga *Chlorella vulgaris* (*C. vulgaris*) en el Sistema de Cal Hidratada, Ceniza Volante y Cemento Portland Ordinario (CH/CV/CPO)

En la Figura 50 se muestran micrografías de los especímenes del sistema CH/CV/CPO inoculados por la microalga *C. vulgaris* durante 5 semanas. En la Figura 50 A) se muestra un espécimen sin inoculación o de referencia, donde se puede observar una superficie rugosa. En la Figura 50 B) se muestra un espécimen inoculado por 1 semana con una bio-película que empieza a recubrir la superficie del mismo, no obstante, aún se tienen zonas sin recubrir de la superficie de la MC.

En la Figura 50 C) se presenta una muestra inoculada durante 3 semanas y se observan nuevas células aglomeradas y la fractura muy probablemente pudo haberse formado durante el proceso de extracción de la clorofila. En la Figura 50 D) y después de 5 semanas de inoculación se puede apreciar una bio-película densa con filamentos y células nuevas.

Con base en el comportamiento presentado se pudiera decir que en el sistema CH/CV/CPO fue bio-receptivo a la microalga *C. vulgaris* y a otra que se desconoce su origen o identidad. No obstante, el sistema CH/CV/CPO pudo

establecer las condiciones adecuadas para el desarrollo de la microalga *C. vulgaris* con un pH≈11.

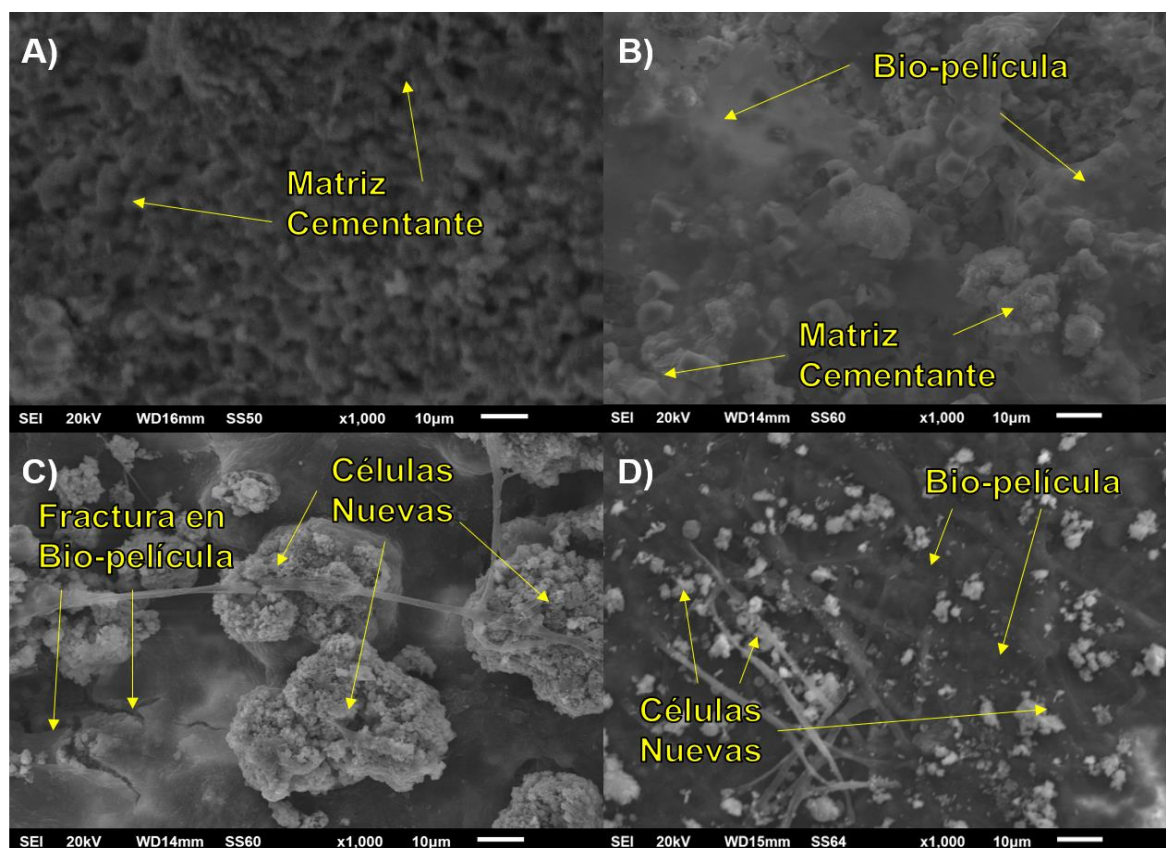


Figura 50. Evolución de la colonización de la microalga *C. vulgaris* sobre las MC del sistema CH/CV/CPO: A) Sin inocular, tiempo de inoculación de B) 1 semana C) 3 semanas y D) 5 semanas.

4.5.3.2 Colonización de la Microalga *Spirulina* en el Sistema de Cal Hidratada, Ceniza Volante y Cemento Portland Ordinario (CH/CV/CPO)

En la Figura 51 se muestra la evolución de la colonización de la microalga *Spirulina* sobre la superficie de los especímenes del sistema CH/CV/CPO durante 5 semanas. En la Figura 51 A) se aprecia el espécimen de referencia sin ser

inoculado. En la Figura 51 B) se puede apreciar el inicio de la formación de la bio-película después de 1 semana de inoculación. En la Figura 51 C) y después de 3 semanas de inoculación se muestran filamentos entrelazados que cubren la superficie del espécimen.

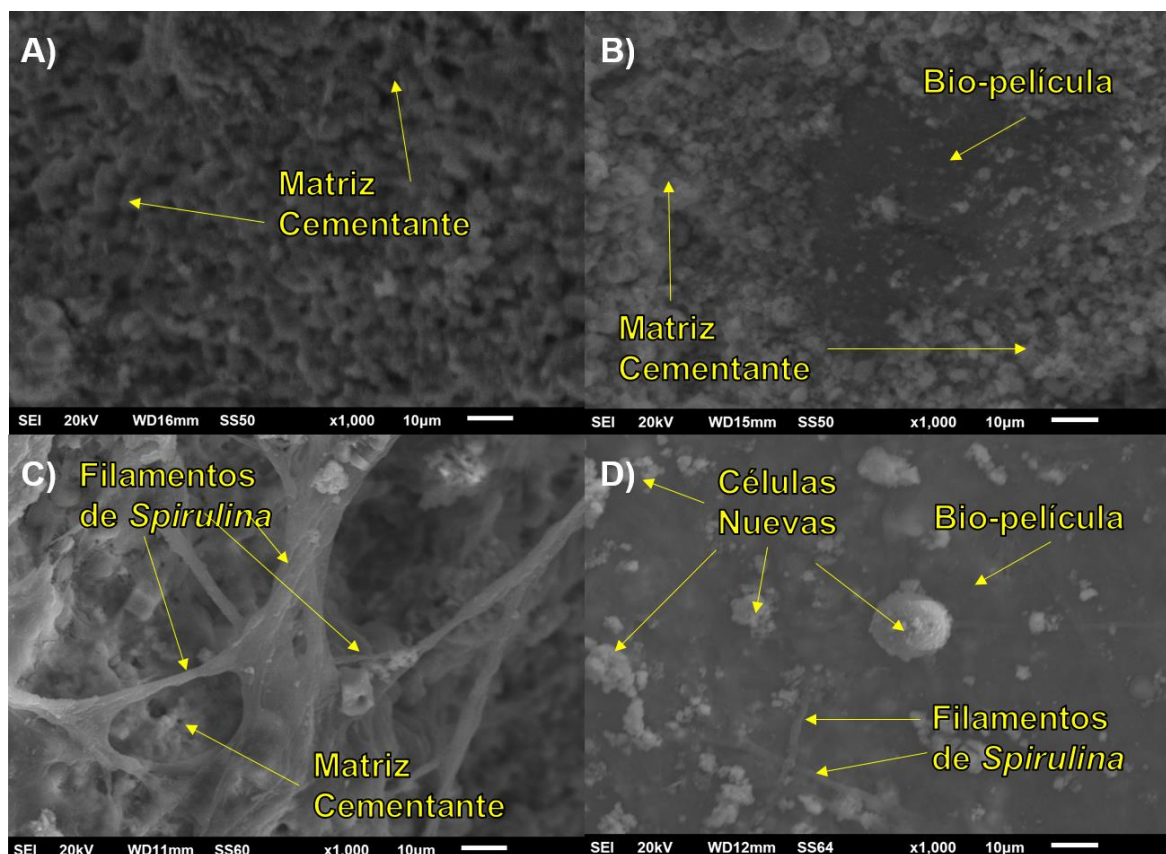


Figura 51. Evolución de la colonización de la microalga Spirulina sobre las MC del sistema CH/CV/CPO: A) Sin inocular, tiempo de inoculación B) 1 semana C) 3 semanas y D) 5 semanas.

En la Figura 51 D) y después de 5 semanas de inoculación, se presenta una bio-película lo suficientemente densa que impide ver la superficie de la MC. Además, se muestran células de origen desconocido con morfología esférica de diferentes tamaños y filamentos que nacen de la bio-película. En el sistema

CH/CV/CPO con un pH ≈ 11 se pudieron generar las condiciones adecuadas para que fuera bio-receptivo a la microalga *Spirulina* y a otro microalga con morfología esférica de la cual se desconoce su identidad.

4.5.3.3 Colonización del Consorcio de Microalgas 1 (Csc-1) en el Sistema de Cal Hidratada, Ceniza Volante y Cemento Portland Ordinario (CH/CV/CPO)

En la Figura 52 se muestran las micrografías durante 5 semanas de inoculación del Csc-1 sobre la superficie del sistema CH/CV/CPO. En la Figura 52 A) se presenta el espécimen de referencia sin inoculación. En la Figura 52 B) después de 1 semana desde su inoculación se puede observar células con morfología de filamentos y aglomerados de células esféricas recubriendo la MC, además de zonas no colonizadas.

En la Figura 52 C) después de 3 semanas de inoculación se continúan observando dos morfologías típicas del Csc-1, aquella de filamentos y la otra esférica. En la Figura 52 D) después de 5 semanas de inoculación se siguen presentando el asentamiento de las dos microalgas representativas del Csc-1. Se muestra la de filamentos y en mayor proporción la esférica. De lo anterior, se puede concluir que el sistema CH/CV/CPO ha generado las condiciones adecuadas para ser bio-receptivo a las dos microalgas comunes del CsC-1.

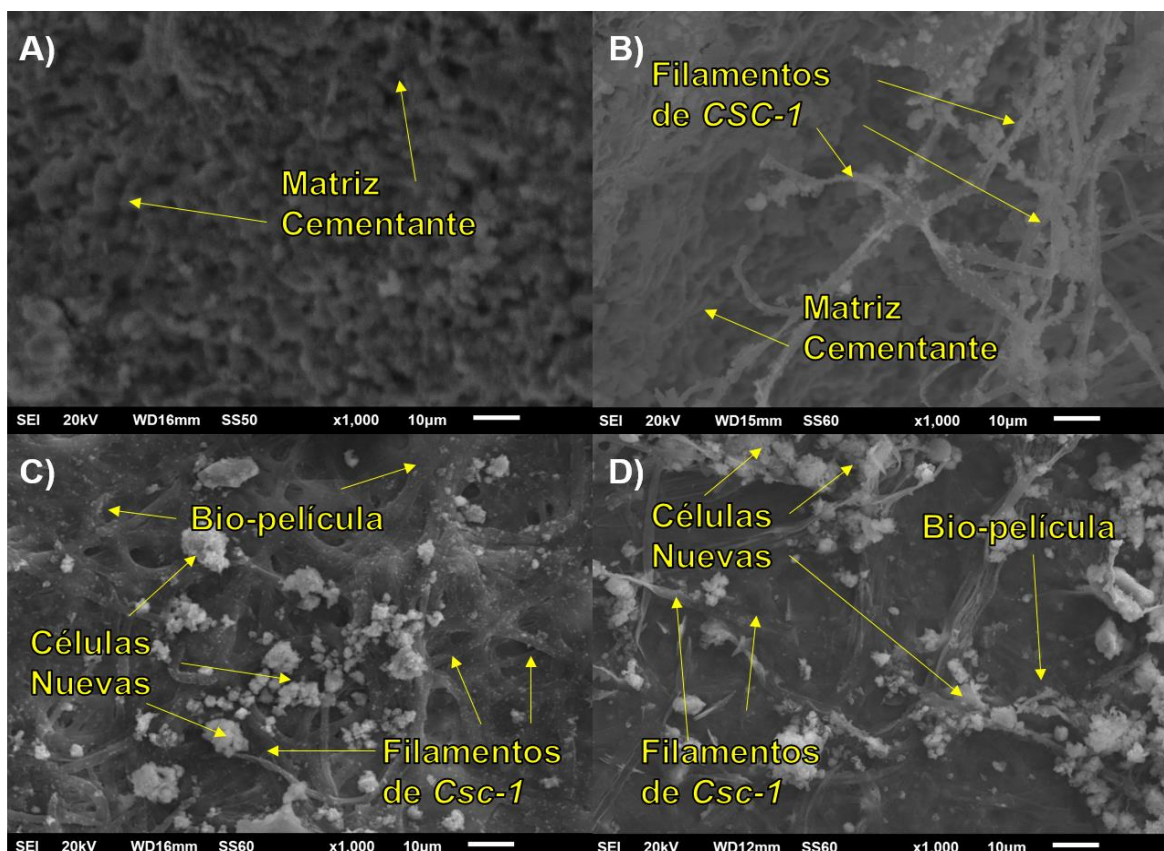


Figura 52. Evolución de la colonización del Csc-1 sobre las MC del sistema CH/CV/CPO: A) Sin inocular, tiempo de inoculación de B) 1 semana C) 3 semanas y D) 5 semanas.

4.5.4 Sistema de Anhidrita, Escoria de Alto Horno y Humo de Sílice (ANH/EAH/HS)

En la Figura 53 se muestra la evolución de la colonización de las microalgas *C. vulgaris*, *Spirulina* y *Csc-1* en el sistema ANH/EAH/HS. Se puede observar que la fase de incubación de las microalgas *C. vulgaris* y *Spirulina* es entre la semana 1 y 2 y la fase de crecimiento exponencial entre la semana 3 y 5. Además, se puede apreciar que durante las 5 semanas de inoculación el *Csc-1* no pudo alcanzar la fase exponencial de igual forma que en los sistemas CPO-

100 y HS/CPO. Por lo anterior se puede decir que el sistema ANH/EAH/HS no pudo generar las condiciones adecuadas para que el Csc-1 pudiera alcanzar la fase exponencial de su desarrollo en 5 semanas a simple vista.



Figura 53. Evolución de la colonización de las microalgas *C. vulgaris*, *Spirulina* y Csc-1 en el sistema ANH/EAH/HS.

4.5.4.1 Colonización de la Microalga *Chlorella Vulgaris* (*C. vulgaris*) en el Sistema de Anhidrita, Escoria de Alto Horno y Humo de Sílice (ANH/EAH/HS)

En la Figura 54 se presenta la evolución durante 5 semanas de la colonización de la microalga *C. vulgaris* sobre la superficie del sistema ANH/EAH/HS. En la Figura 54 A) se muestra el espécimen de referencia sin inoculación en donde se pueden observar granos de agregado fino de diferentes

tamaños embebidos en la MC. En la Figura 54 B) se presenta la muestra a 1 semana de inoculación con células de forma esférica típica de la *C. vulgaris*, no obstante, aún es posible observar la superficie sin bio-película de la MC.

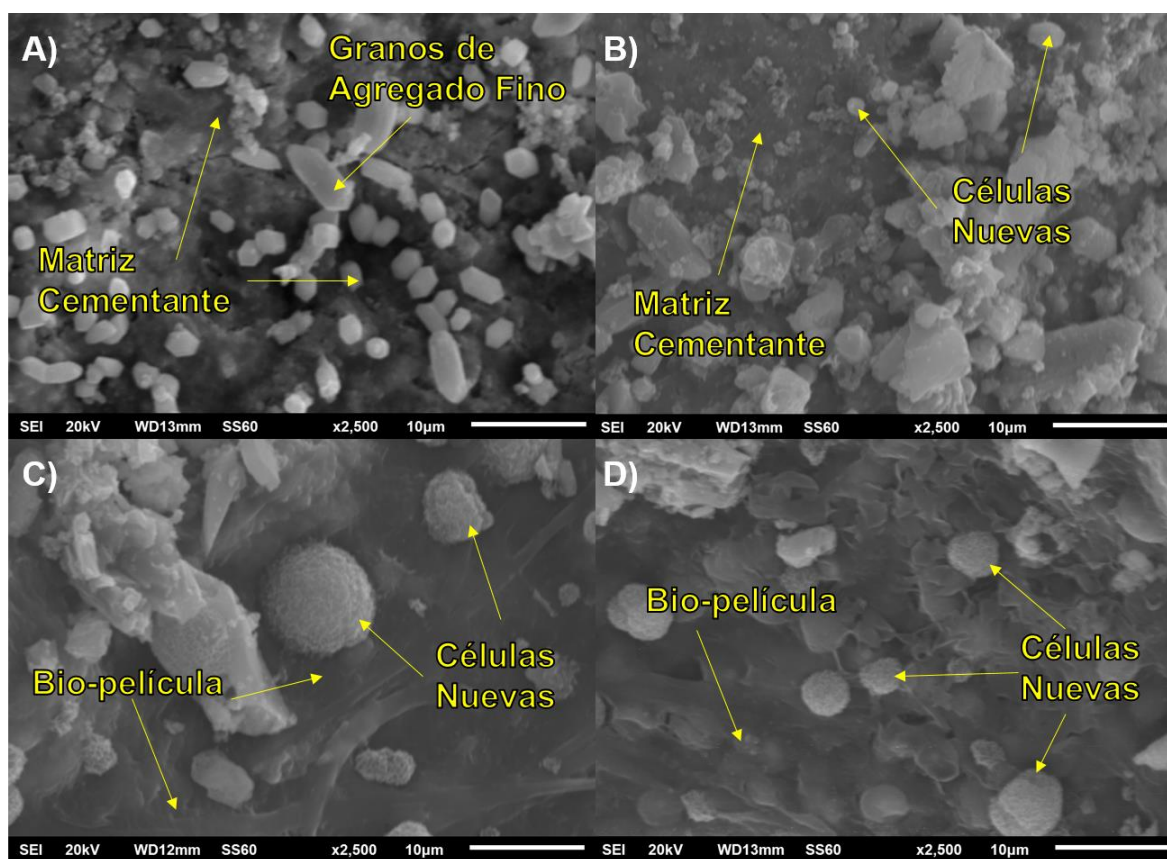


Figura 54. Evolución de la colonización de la microalga *C. vulgaris* sobre la MC del sistema ANH/EAH/HS: A) Sin inocular, tiempo de inoculación de B) 1 semana C) 3 semanas y D) 5 semanas.

En la Figura 54 C) después de 3 semanas de haber sido inoculado se pueden observar nuevas células de forma esférica de diferentes tamaños. En la Figura 54 D) se aprecia una muestra de 5 semanas de inoculación con una mayor cantidad de células nuevas, lo que genera la densificación de la bio-película. Por lo anterior, se puede determinar que el sistema con un $\text{pH} \approx 10$ pudo generar las

condiciones para que la microalga *C. vulgaris* pudiera formar una bio-película en 5 semanas.

4.5.4.2 Colonización de la Microalga *Spirulina* en el Sistema de Anhídrita, Escoria de Alto Horno y Humo de Sílice (ANH/EAH/HS)

En la Figura 55 se muestra la evolución de la inoculación del sistema ANH/EAH/HS por la microalga *Spirulina* durante 5 semanas. En la Figura 55 A) se puede observar la muestra de referencia sin inoculación. En la Figura 55 B) se presenta un espécimen inoculado por la microalga *Spirulina* durante 1 semana. Se pueden apreciar filamentos muy típicos de la microalga *Spirulina* enlazando aglomerados de células de forma elíptica.

En la Figura 55 C) se muestra un espécimen después de 3 semanas de haber sido inoculada. Además, se distingue una fractura en la bio-película desarrollada, originada por la extracción de la clorofila. Adicionalmente, se aprecian células de forma elíptica similares a las células que se formaron en la bio-película desarrollada por la microalga *Spirulina* en el sistema CPO-100.

En la Figura 55 D) se aprecia un espécimen de 5 semanas de haber sido inoculado donde se presenta una bio-película, así como también células de forma elíptica. La fractura en la bio-película pudiera deberse al proceso de la prueba de extracción de clorofila. De lo anterior, se puede determinar que el sistema ANH/EAH/HS generó las condiciones adecuadas para que se desarrollara durante 5 semanas la microalga *Spirulina* y otra de morfología elíptica de identidad desconocida.

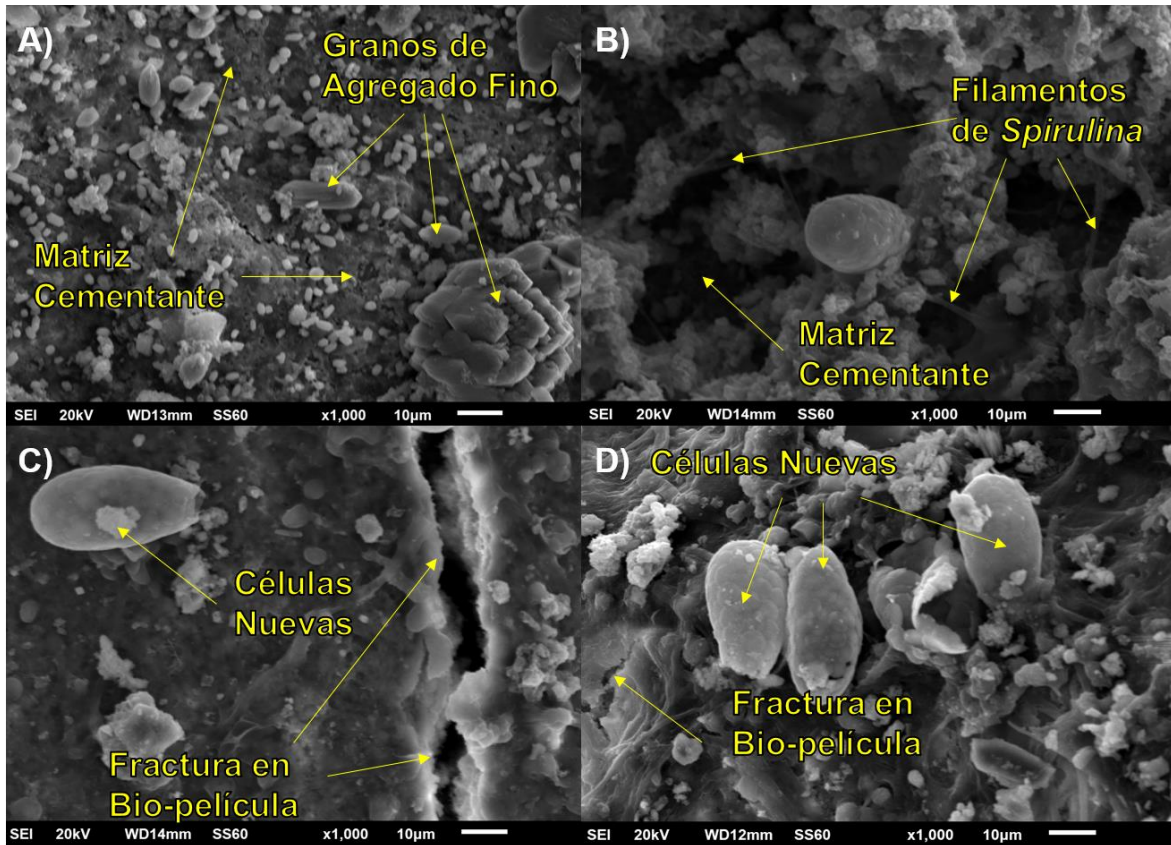


Figura 55. Evolución de la colonización de la microalga *Spirulina* sobre las MC del sistema ANH/EAH/HS: A) Sin inocular, tiempo de inoculación B) 1 semana C) 3 semanas y D) 5 semanas.

4.5.4.3 Colonización del Consorcio de Microalgas 1 (Csc-1) en el Sistema de Anhidrita, Escoria de Alto Horno y Humo de Sílice (ANH/EAH/HS)

En la Figura 56 se presenta la evolución de la inoculación del Csc-1 del sistema ANH/EAH/HS. En la Figura 56 A) se tiene a un al espécimen de referencia sin haber sido inoculado y en donde se pueden observar la superficie del espécimen y los granos embebidos en la matriz. En la Figura 56 B) se puede apreciar un

espécimen después de 1 semana de haber sido inoculado en donde se muestra una bio-película ya formada y una fractura producto de la prueba de extracción de la clorofila.

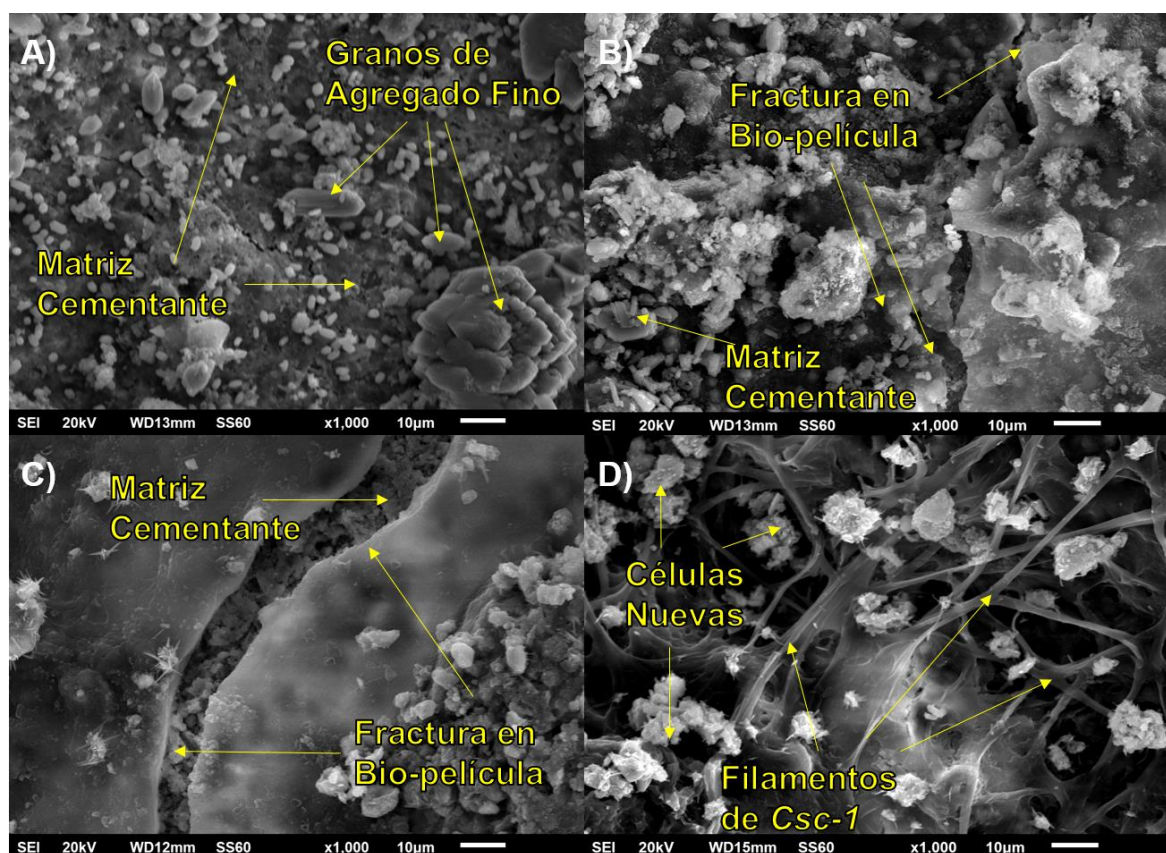


Figura 56. Evolución de la colonización del Csc-1 sobre las MC del sistema ANH/EAH/HS: A) Sin inocular, tiempo de inoculación de B) 1 semana C) 3 semanas y D) 5 semanas.

En la Figura 56 C) y después de 3 semanas de inoculación se puede observar una bio-película más densa que ha sido fracturada y nuevas células de morfología esférica. En la Figura 56 D) se muestra un micrografía del espécimen después de 5 semanas de haber sido inoculado donde se puede apreciar las dos morfologías típicas, filamentosa y esférica. De lo anterior, se puede concluir que el

sistema ANH/EAH/HS pudo generar las condiciones adecuadas para el desarrollo del Csc-1.

4.6 Concentración de Clorofila “a” (Chl “a”)

Una forma de cuantificar la colonización de la microalgas fue por medio de la prueba de la extracción de la Chl “a” considerando los tres tipos de microalgas en cada uno de los sistemas durante las 5 semanas de estudio. En la Figura 57 se muestra el comportamiento del porcentaje de Chl “a” en cada uno de los sistemas CPO-100, HS/CPO, CH/CV/CPO y ANH/EAH/HS.

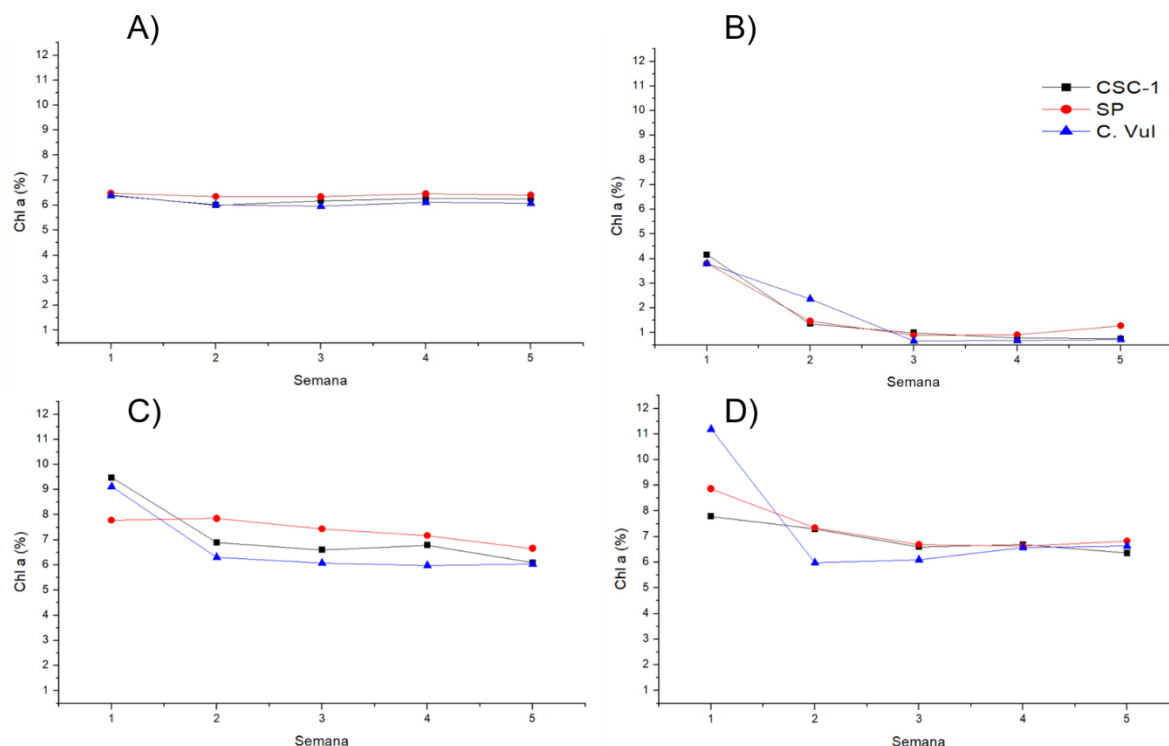


Figura 57. Evolución del porcentaje de Chl “a” durante 5 semanas de inoculación de los sistemas A)CPO-100, B)HS/CPO, C) CH/CV/CPO y D)ANH/EAH/HS.

En la Figura 57 A) se muestra la evolución del porcentaje de Chl “a” extraída del sistema CPO-100 donde se observa un comportamiento casi lineal desde la

semana 1 a la 5. Sin embargo, se tiene una curva ligeramente decreciente entre la semana 1 y 2 de la microalga *C. vulgaris*. En la Figura 57 B) se muestra un comportamiento decreciente muy similar por las tres microalgas. En la semana 1 se alcanza su valor máximo y su mínimo en la semana 4. La microalga *Spirulina* fue la que presentó los porcentajes más altos de Chl “a” en la semana 5.

En la Figura 57 C) las microalgas *C. vulgaris* y *Csc-1* presentaron un comportamiento similar al generar una curva decreciente hasta la semana 5. En la Figura 57 D) las microalgas *C. vulgaris*, *Spirulina* y *Csc-1* mostraron un comportamiento similar y decreciente desde la semana 1 hasta la 5.

La microalga *Spirulina* obtuvo los valores más altos de Chl “a” en los sistemas de este proyecto de tesis. Además, se puede observar una clara tendencia por las microalgas *C. vulgaris*, *Spirulina* y el *Csc-1* a una estabilidad de la Chl “a” en los sistemas HS/CPO, CH/CV/CPO y ANH/EAH/HS durante las 5 semanas de estudio.

Se ha reportado que en los estudios donde se ha aplicado métodos de extracción de clorofila por lo general las variables son: el extractante, tiempo y frecuencia del ultrasonido, longitud de onda y resolución del espectrofotómetro, así como ecuaciones matemáticas en función de mediciones de absorbancia [13,18,152,154]. Sin embargo, no es considerado el tiempo de inoculación de las matrices rocosas.

Con base en los resultados de la Figura 57 se hubiera esperado curvas crecientes de tipo exponencial, es decir, en 5 semanas se tendría la mayor concentración de Chl “a”. Sin embargo, los resultados de % Chl “a” indican lo

contrario y pudiera ser que la prueba de extracción de Chl “a” sea válida únicamente para edades tempranas en lo que se refiere al crecimiento de las microalgas.

La formación de la bio-película fue desarrollada en todos los sistemas desde la semana 1 siendo un valor máximo en los porcentajes de Chl “a”. En base a los porcentajes de Chl “a” obtenidos cada semana, fue generada una curva decreciente. Lo anterior, pudiera interpretarse de tal forma que es más fácil la remoción de la clorofila en las primeras semanas debido a que la bio-película se va consolidando con el tiempo. Es decir, con el paso del tiempo las microalgas van formando una capa más densa de células sobre la superficie dando mayor resistencia a que la bio-película sea removida.

Por lo anterior y para trabajos futuros, es recomendable utilizar otro método de extracción de Chl “a” en el cual se pueda optimizar la concentración extraída de clorofila a diferentes tiempos, es decir semanas, como es el caso de este proyecto de tesis. Sin embargo, para evaluar la bio-receptividad existen otros métodos para poder cuantificar la colonización dentro de las MC y uno de ellos es por medio de la cuantificación de biomasa.

4.7 Biomasa Producida por las Microalgas *C. vulgaris*, *Spirulina* y el Csc-1 en los Sistemas CPO-100, HS/CPO, CH/CV/CPO y ANH/EAH/HS

En la Figura 58 se muestra la producción de biomasa considerando las tres microalgas en los cuatro sistemas de MC de este proyecto de tesis. Se puede observar que el sistema CH/CV/CPO y HS/CPO fueron los más bio-receptivos en comparación a los sistemas CPO-100 y ANH/EAH/HS, es decir, los que tuvieron una mayor producción total de biomasa por parte de las tres microalgas *C. vulgaris*, *Spirulina* y Csc-1.

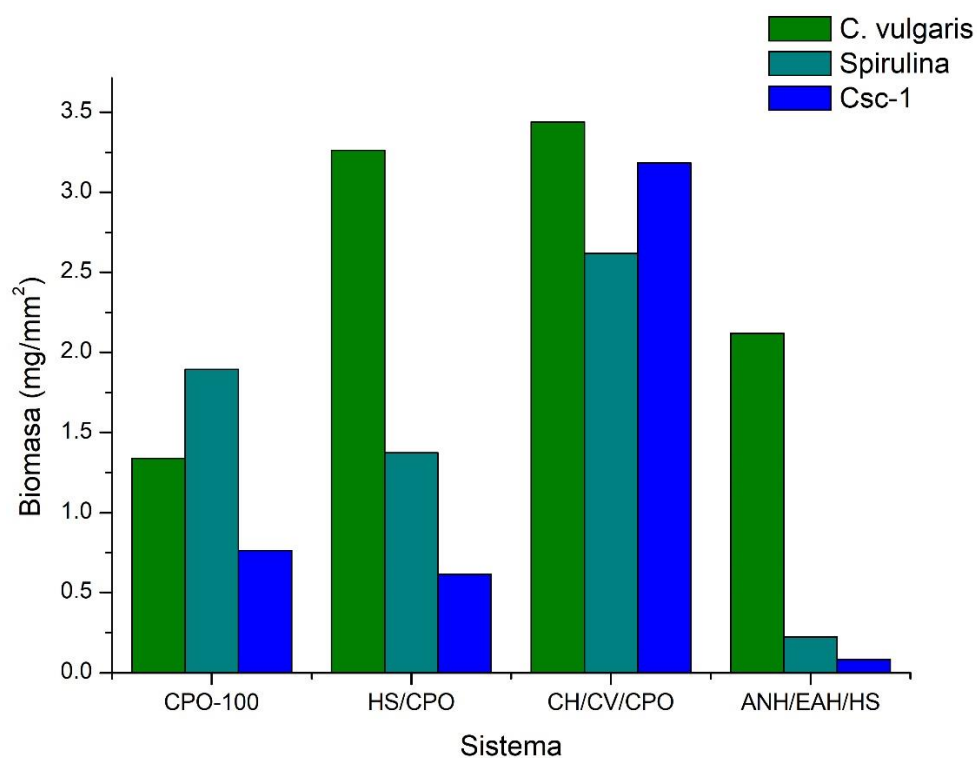


Figura 58. Producción de biomasa de las microalgas *C. vulgaris*, *Spirulina* y el Csc-1 en los sistemas CPO-100, HS/CPO, CH/CV/CPO y ANH/EAH/HS.

En la Tabla 18 se muestra un resumen de la cuantificación de la biomasa y su comparativo con otras propiedades evaluadas como la relación a/mc, valor de pH, rugosidad, porosidad y diámetro de poro por análisis BET.

Tabla 18. Evaluación de la biomasa generada en las cuatro MC.

Sistema	Alga	Biomasa (mg/mm ²)	a/mc	pH	Diámetro de poro (nm)	Porcentaje de vacíos (%)	Rugosidad Total (μm)
CPO-100	<i>C. vulgaris</i>	1.3387	0.60	12.40	15.294	19.66	16.93
	<i>Spirulina</i>	1.8935					
	<i>Csc-1</i>	0.7640					
HS/CPO	<i>C. vulgaris</i>	3.2626	0.70	10.30	18.369	33.09	13.82
	<i>Spirulina</i>	1.3723					
	<i>Csc-1</i>	0.6135					
CH/CV/CPO	<i>C. vulgaris</i>	3.4386	0.70	10.68	15.527	29.80	14.45
	<i>Spirulina</i>	2.6201					
	<i>Csc-1</i>	3.1816					
ANH/EAH/HS	<i>C. vulgaris</i>	2.1183	0.60	9.86	11.524	24.78	15.18
	<i>Spirulina</i>	0.2231					
	<i>Csc-1</i>	0.0820					

a: valor de pH a 28 días de edad, b: valor de pH a 5 días de carbonatación

De lo anterior, se puede observar que el sistema de referencia CPO-100 fue más bio-receptivo a la microalga *Spirulina* que a la *C. vulgaris* y pudiera deberse a su valor de pH alcalino de 12.41. El sistema HS/CPO fue más bio-receptivo a la microalga *C. vulgaris* al generar la mayor producción de biomasa en comparación a las microalgas *Spirulina* y *Csc-1*. El sistema CH/CV/CPO fue el más bio-receptivo a las tres microalgas, pero aquella que generó más biomasa fue la *C. vulgaris*. El sistema ANH/EAH/HS fue el que tuvo menor producción de biomasa total en comparación con los demás sistemas de este estudio por parte de las tres microalgas *C. vulgaris*, *Spirulina* y *Csc-1*. Lo anterior, pudiera deberse a que su tamaño de poro fue de 11.52nm.

Es importante señalar que con diámetros de poro por arriba de 15 nm se obtuvieron los valores más altos de producción de biomasa total por parte de los sistemas CH/CV/CPO, HS/CPO y CPO-100. Con base en los resultados del diámetro de poro de los cuatro sistemas involucrados, se puede ver una tendencia que indica que a menor diámetro de poro se produce menos biomasa sobre la superficie, es decir una menor bio-receptividad. De lo anterior, se pudiera concluir que con la relación a/mc de 0.7 se obtuvieron los valores más altos en cuanto a producción de biomasa en los sistemas CH/CV/CPO, HS/CPO que coincide con la literatura ya que a mayor relación a/mc se obtiene una mayor porosidad [103,105].

En cuanto a los valores presentados de la rugosidad del sistema CPO-100 son superiores a los obtenidos en trabajos anteriores por Manso y col. [11]. Es importante señalar que muy probablemente la rugosidad tuvo influencia para que la microalga *C. vulgaris* pudiera generar una bio-película en el sistema CPO-100 aunque el pH no fuera el óptimo para su desarrollo. Así como también es probable que la diferencia de rugosidad entre el sistema CH/CV/CPO y HS/CPO fue el factor que generó que el primero fuera más bio-receptivo que el segundo. Los valores tan similares de rugosidad dentro de los sistemas aquí evaluados pudieran deberse a que fue modificada con la misma flota de goma para todos los especímenes.

La microalga *C. vulgaris* fue la que mayor producción de biomasa presentó en los sistemas HS/CPO, CH/CV/CPO y ANH/EAH/HS siendo menos bio-receptivo al sistema CPO-100. Algunos investigadores han reportado que la microalga *C. vulgaris* tiene la capacidad de vivir en valores de pH en el rango de 7 -10 [48]. Sin embargo, los resultados obtenidos en los sistemas cementantes estudiados en este

proyecto de tesis indican que la microalga *C. vulgaris* tiene la capacidad de vivir en valores de pH de 10-12. Es importante señalar que los mejores resultados en cuanto a producción de biomasa fueron obtenidos con valores de pH de 10.31 para el sistema HS/CPO y 11.45 para el sistema CH/CV/CPO.

La mayor producción de biomasa por parte de la microalga *Spirulina* fue en el sistema CH/CV/CPO y pudiera deberse a la influencia de las variables a/mc, valores de pH ≈ 11 , diámetro de poro de 15.53 nm. Así como también la microalga *Spirulina* generó más biomasa en el sistema CPO-100. Por lo que se pudiera decir que la microalga *Spirulina* se desarrolla mejor en los sistemas con valores de pH de 11-12.

El Csc-1 obtuvo la menor producción de biomasa en los sistemas CPO-100, HS/CPO y ANH/EAH/HS y su mejor producción fue en el sistema CH/CV/CPO.

CAPÍTULO 5

5. Conclusiones

A partir del análisis y la discusión de los resultados se pudo comprobar la hipótesis general. Las principales conclusiones de este proyecto de investigación fueron las siguientes:

- La relación a/mc de 0.6 fue la más adecuada para los sistemas CPO-100 y ANH/EAH/HS debido a que el pH se pudo estabilizar después del día 14 y 56, respectivamente. La relación a/mc de 0.7 resultó ser la más adecuada en los sistemas CH/CV/CPO y HS/CPO debido a que sus respectivos pH pudieron estabilizarse después de los días 14 y 28, respectivamente.
- El análisis por DRX reveló en el sistema CPO-100 la presencia de S-C-H desde el día 1 al 90. En el sistema HS/CPO se pudo detectar la existencia

de C_3S desde el día 1 al 90, lo que pudiera indicar la presencia de partículas sin hidratar. Es importante mencionar que en los días 1 y 56 se presentaron los picos de difracción más bajos de C_3S y pudiera estar relacionado con lo reportado en los estudios de FRX, ya que a mayor concentración de SiO_2 , menor de CaO y aumento del valor de pH.

- En el sistema ANH/EAH/HS se pudo identificar la fase de Yeso (Y) desde el día 1 al 90 siendo producto de la transformación de fase de ANH a Yeso. En el sistema CH/CV/CPO se pudo identificar la presencia de Calcita, que pudiera estar relacionada con el tiempo de carbonatación de los especímenes siendo muy evidente a la edad de 20 días.
- La microalga *C. vulgaris* presentó un periodo de incubación de 12 días teniendo un máximo de crecimiento después de 36 días en condiciones de laboratorio. La microalga *Spirulina* presentó un periodo de incubación de 10 días alcanzando dos picos máximos de crecimiento los días 16 y 36 para después tener un comportamiento creciente hasta el día 60. La morfología del Csc-1 fue un impedimento para evaluar las etapas de incubación y crecimiento de la misma.
- El método de inoculación utilizado en el presente proyecto fue el de goteo sobre el método de contacto con el medio, debido a que se obtuvo una mayor concentración de Chl “a” del promedio de los cuatro extractantes

DMSO, metanol, etanol y acetona. El metanol fue el extractante seleccionado y con el que se obtuvo una mayor concentración de Chl “a”.

- La prueba de extracción de la Chl “a” no fue la técnica adecuada para evaluar la bio-receptividad de las MC de este proyecto. Lo anterior, era debido a que a edades tempranas la bio-película comenzaba a consolidarse y el método de extracción de la Chl “a” arrojaba valores muy altos y a edades tardías cuando se esperaba un mayor % Chl “a” se obtenían valores muy bajos dando un comportamiento decreciente de tipo exponencial, contrario a lo que se esperaba. Por medio de MEB se pudo corroborar que la bio-película fue formada desde la semana 1 y se iba densificando debido a la mayor población de células sobre la superficie. Por lo anterior, el método apropiado para evaluar la bio-receptividad en los sistemas CPO-100, HS/CPO, ANH/EHA/HS y CH/CV/CPO fue por medio de la cuantificación de la biomasa (mg/mm^2).
- Por medio de análisis BET se pudo determinar que con diámetros de poro por arriba de 15 nm se obtuvieron los valores más altos de producción de biomasa total por parte de los sistemas CH/CV/CPO, HS/CPO y CPO-100. Además, se pudo observar que a mayor relación a/mc de 0.7 en los sistemas HS/CPO y CH/CV/CPO se pudo obtener una mayor porosidad que fue determinada con la Norma ASTM C642. Por lo anterior, se pudo concluir que a mayor porosidad se obtiene una mayor producción de biomasa (mg/mm^2), lo que hace al sistema más bio-receptivo. También se

determinó que, a menor diámetro de poro, menor porosidad por lo que se obtiene menor producción de biomasa y menos bio-receptivo es el sistema.

- El sistema más bio-receptivo fue el CH/CV/CPO al ser colonizado por las tres microalgas y haber producido la mayor cantidad de biomasa. El sistema ANH/EAH/HS fue el menos bio-receptivo de los sistemas estudiados generando un 73% menos de biomasa que el sistema CH/CV/CPO.
- La microalga *C. vulgaris* fue la que presentó una mayor capacidad de colonización debido a que obtuvo un 54 % más de biomasa que el Csc-1 en los sistemas CPO-100, CH/CV/CPO, HS/CPO y ANH/EAH/HS. La microalga *C. vulgaris* tiene la capacidad de desarrollarse en valores de pH de 10-12 y la microalga *Spirulina* prefiere los sistemas con valores de pH de 11-12. El Csc-1 solo pudo presentar su etapa exponencial de crecimiento en el sistema CH/CV/CPO.

CAPÍTULO 6

6. Recomendaciones para Trabajos Futuros

- Existe un cambio de la presencia de C_3S en los días 1 y 56 evidenciado con la concentración de CaO . Sería importante elaborar más pruebas y ver si existe una relación con el aumento del pH.
- Prolongar el tiempo de estudio de los valores de pH en los sistemas ANH/EAH/HS y CH/CV/CPO. Lo anterior con el fin de encontrar la edad a la que se estabiliza el pH, en el caso del sistema CH/CV/CPO prolongar el tiempo dentro de la cámara de carbonatación y realizar las mediciones de pH correspondientes.

- Al desconocer la morfología de microalgas recuperadas que no fueron previamente aisladas, se debe de cuantificar su desarrollo con el método directo e indirecto para poder generar su gráfica de crecimiento.
- Para evaluar la capacidad bio-receptiva de los especímenes se podría considerar aumentar el tiempo de sonicación al momento de la extracción de la Chl “a” para optimizar la materia extraída o utilizar una cuantificación de biomasa en seco.
- Evaluar las propiedades térmicas y acústicas de las MC bio-receptivas de los sistemas de este proyecto de tesis, así como también la resistencia a la compresión de las mismas.
- Estudiar la capacidad de fijación de CO₂ de cada una de las microalgas sobre las MC bio-receptivas.

Referencias

- [1] S.R. Gaffin, C. Rosenzweig, A.Y.Y. Kong, Adapting to climate change through urban green infrastructure, *Nat. Clim. Chang.* 2 (2012) 704. <http://dx.doi.org/10.1038/nclimate1685>.
- [2] B.Z. Siegel, S.M. Siegel, The chemical composition of algal cell walls, *Crit. Rev. Microbiol.* 3 (1973) 1–26. doi:10.3109/10408417309108743.
- [3] E. Possan, W.A. Thomaz, G.A. Aleandri, E.F. Felix, A.C.P. dos Santos, CO₂ uptake potential due to concrete carbonation: A case study, *Case Stud. Constr. Mater.* 6 (2017) 147–161. doi:10.1016/j.cscm.2017.01.007.
- [4] A.Z. Miller, P. Sanmartín, L. Pereira-Pardo, A. Dionísio, C. Saiz-Jimenez, M.F. Macedo, B. Prieto, Bioreceptivity of building stones: A review, *Sci. Total Environ.* 426 (2012) 1–12. doi:10.1016/j.scitotenv.2012.03.026.
- [5] M. D’Orazio, G. Cursio, L. Graziani, L. Aquilanti, A. Osimani, F. Clementi, C. Yéprémian, V. Lariccia, S. Amoroso, Effects of water absorption and surface roughness on the bioreceptivity of ETICS compared to clay bricks, *Build. Environ.* 77 (2014) 20–28. doi:10.1016/j.buildenv.2014.03.018.
- [6] B. Meng, J. Wang, R. Andrew, H. Xiao, G. Peters, J. Xue, Spatial Spillover Effects in Determining China’s Regional CO₂ Emission Growth: 2007–2010, 63 (2016) 161–173.
- [7] C. Cau Dit Coumes, S. Courtois, D. Nectoux, S. Leclercq, X. Bourbon, Formulating a low-alkalinity, high-resistance and low-heat concrete for radioactive waste repositories, *Cem. Concr. Res.* 36 (2006) 2152–2163. doi:10.1016/j.cemconres.2006.10.005.
- [8] R.M. Lawrence, T.J. Mays, S.P. Rigby, P. Walker, D. D’Ayala, Effects of carbonation on the pore structure of non-hydraulic lime mortars, *Cem. Concr. Res.* 37 (2007) 1059–1069. doi:10.1016/j.cemconres.2007.04.011.
- [9] R.X. Magallanes-Rivera, J.I. Escalante-García, Anhydrite/hemihydrate-blast furnace slag cementitious composites: Strength development and reactivity, *Constr. Build. Mater.* 65 (2014) 20–28. doi:10.1016/j.conbuildmat.2014.04.056.
- [10] S. Manso, G. Mestres, M.P. Ginebra, N. De Belie, I. Segura, A. Aguado, Development of a low pH cementitious material to enlarge bioreceptivity, *Constr. Build. Mater.* 54 (2014) 485–495. doi:10.1016/j.conbuildmat.2014.01.001.
- [11] S. Manso, W. De Muynck, I. Segura, A. Aguado, K. Steppe, N. Boon, N. De Belie, Bioreceptivity evaluation of cementitious materials designed to stimulate biological growth, *Sci. Total Environ.* 481 (2014) 232–241. doi:10.1016/j.scitotenv.2014.02.059.
- [12] S. Manso, M.Á. Calvo-Torras, N. De Belie, I. Segura, A. Aguado, Evaluation of natural colonisation of cementitious materials: Effect of bioreceptivity and environmental conditions, *Sci. Total Environ.* 512–513 (2015) 444–453. doi:10.1016/j.scitotenv.2015.01.086.
- [13] V. Ferrándiz-Mas, T. Bond, Z. Zhang, J. Melchiorri, C.R. Cheeseman, Optimising the bioreceptivity of porous glass tiles based on colonization by the alga *Chlorella vulgaris*, *Sci. Total Environ.* 563–564 (2016) 71–80. doi:10.1016/j.scitotenv.2016.04.023.
- [14] M. Ainas, S. Hasnaoui, R. Bouarab, N. Abdi, N. Drouiche, N. Mameri, Hydrogen production with the cyanobacterium *Spirulina platensis*, *Int. J. Hydrogen Energy.* 42 (2017) 4902–4907. doi:10.1016/j.ijhydene.2016.12.056.
- [15] D. Yuan, X. Zhan, M. Wang, X. Wang, W. Feng, Y. Gong, Q. Hu, Biodiversity and distribution of microzooplankton in *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* mass cultures throughout China, *Algal Res.* 30 (2018) 38–49. doi:10.1016/j.algal.2017.12.009.
- [16] F. Deschner, F. Winnefeld, B. Lothenbach, S. Seufert, P. Schwesig, S. Dittrich, F. Goetz-Neunhoeffer, J. Neubauer, Hydration of Portland cement with high replacement by siliceous fly ash, *Cem. Concr. Res.* 42 (2012) 1389–1400. doi:10.1016/j.cemconres.2012.06.009.
- [17] InfoSci Databases, IGI Global, (n.d.). <https://www.igi-global.com/dictionary/technological-approach-of-bioremediation-using-microbial-tools/58570>.
- [18] D. Vázquez-nion, B. Silva, F. Troiano, B. Prieto, B. Silva, F. Troiano, B. Prieto, Laboratory grown subaerial biofilms on granite: application to the study of bioreceptivity, 7014 (2017). doi:10.1080/08927014.2016.1261120.
- [19] D.W. Thompson, *Growth and Form*, Second, Cambridge: At the University Press, New York, (1945).

- [20] P.Y. Chen, J. McKittrick, M.A. Meyers, *Progress in Materials Science, Biol. Mater. Funct. Adapt. Bioinspired Des.* 57 (2012) 1492–1704. doi:10.1038/199414a0.
- [21] F. Pacheco-Torgal, J.A. Labrincha, *Biotech cementitious materials: Some aspects of an innovative approach for concrete with enhanced durability, Constr. Build. Mater.* 40 (2013) 1136–1141. doi:10.1016/j.conbuildmat.2012.09.080.
- [22] V. Ivanov, V. Stabnikov, *Construction Biotechnology*, Springer Netherlands, Singapore, (2017). doi:10.1007/978-981-10-1445-1.
- [23] C. Lours, M.H. Chehade, D. Damidot, pH variations during growth of *Acidithiobacillus thiooxidans* in buffered media designed for an assay to evaluate concrete biodeterioration, *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 63 (2009) 880–883. doi:10.1016/j.ibiod.2009.06.012.
- [24] F. Pacheco-Torgal, J.A. Labrincha, M. V. Diamanti, C.P. Yu, H.K. Lee, *Biotechnologies and biomimetics for civil engineering*, 2015. doi:10.1007/978-3-319-09287-4.
- [25] V. Ivanov, V. Stabnikov, J. Chu, *Basics of Construction Microbial Biotechnology*, in: M.V. Diamanti, C.-P. Yu, H.K. Lee (Eds.), *Biotechnol. Biomimetics Civ. Eng.*, Springer Netherlands, London, 2015; pp. 21–28. doi:10.1007/978-3-319-09287-4_2.
- [26] O. Guillitte, *Bioreceptivity: a new concept for building ecology studies*, *Sci. Total Environ.* 167 (1995) 215–220. doi:10.1016/0048-9697(95)04582-L.
- [27] M. Ottel  , *A Green Building Envelope: A Crucial Contribution to Biophilic Cities*, in: *Biotechnol. Biomimetics Civ. Eng.*, Springer Netherlands, London, (2015): pp. 135–158. doi:10.1007/978-3-319-09287-4.
- [28] G. P  rez, J. Coma, C. Barreneche, A. De Gracia, M. Urrestarazu, S. Bur  s, L.F. Cabeza, *Acoustic insulation capacity of Vertical Greenery Systems for buildings*, *Appl. Acoust.* 110 (2016) 218–226. doi:10.1016/j.apacoust.2016.03.040.
- [29] A.R. Beer, *Greenspaces, green structure, and green infrastructure planning*, *Urban Ecosyst. Ecol.* (2010) 431–448. doi:10.2134/agronmonogr55.c21.
- [30] E.J. Gago, J. Roldan, R. Pacheco-Torres, J. Ordonez, *The city and urban heat islands: A review of strategies to mitigate adverse effects*, *Renew. Sustain. Energy Rev.* 25 (2013) 749–758. doi:DOI 10.1016/j.rser.2013.05.057.
- [31] J. Jim  nez P  rez, G. Cu  llar, E. Trevi  o,   reas Verdes del Municipio de Monterrey, Monterrey, Nuevo Le  n, M  xico, (2013). <http://portal.monterrey.gob.mx/transparencia/areaverdesmtty.pdf>.
- [32] M. Razzaghmanesh, S. Beecham, T. Salemi, *The role of green roofs in mitigating Urban Heat Island effects in the metropolitan area of Adelaide, South Australia* role of green roofs in mitigating Urban Heat Island effects in the metropolitan area of, *Urban For. Urban Green.* 15 (2016) 89–102. doi:10.1016/j.ufug.2015.11.013.
- [33] M. Squier, C.I. Davidson, *Heat flux and seasonal thermal performance of an extensive green roof*, *Build. Environ.* 107 (2016) 235–244. doi:10.1016/j.buildenv.2016.07.025.
- [34] N. Kingsbury, N. Dunnett, *Planting Green Roofs and Living Walls*, Rev., Timber press, Oregon, (2008).
- [35] R. Cervera Sard  , J. G  mez Pioz, *Architectural Bio-Photo Reactors: Harvesting Microalgae on the Surface of Architecture*, in: *Biotechnol. Biomimetics Civ. Eng.*, Springer Netherlands, London, (2015): pp. 163–179. doi:10.1007/978-3-319-09287-4.
- [36] G.M. Elrayies, *Microalgae: Prospects for greener future buildings*, *Renew. Sustain. Energy Rev.* 81 (2018) 1175–1191. doi:10.1016/j.rser.2017.08.032.
- [37] S.S. Oncel, A. Kose, D.S. Oncel, *Fa  ade integrated photobioreactors for building energy efficiency*, in: F. Pacheco-Torgal, E.R. Claes-G  oran Granqvist, V.I. Arturas Kaklauskas, S. Makonin (Eds.), *Start-Up Creat. Smart Eco-Efficient*, Elsevier, Cambridge, (2016): pp. 237–290.
- [38] C. Saiz-Jimenez, *Biodeterioration vs biodegradation: The role of microorganisms in the removal of pollutants deposited on historic buildings*, *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 40 (1997) 225–232. doi:10.1016/S0964-8305(97)00035-8.
- [39] M. Same  o Puerto, J. Garc  a Rowe, *BIODETERIORO. ALTERACI  N BIOL  GICA DE MONUMENTOS Y OBRAS DE ARTE*, Andaluc  a, (1995). <http://www.iaph.es/revistaph/index.php/revistaph/article/view/183/183#.WXDTJliGPIU>.
- [40] V. Wiktor, F. De Leo, C. Urz  , R. Guyonnet, P. Grosseau, E. Garcia-Diaz, *Accelerated laboratory test to study fungal biodeterioration of cementitious matrix*, *Int. Biodeterior.*

- Biodegrad. 63 (2009) 1061–1065. doi:10.1016/j.ibiod.2009.09.004.
- [41] B. Gutarowska, M. Piotrowska, Methods of mycological analysis in buildings, *Build. Environ.* 42 (2007) 1843–1850. doi:10.1016/j.buildenv.2006.02.015.
- [42] D.J. Giannantonio, J.C. Kurth, K.E. Kurtis, P.A. Sobecky, Effects of concrete properties and nutrients on fungal colonization and fouling, *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 63 (2009) 252–259. doi:10.1016/j.ibiod.2008.10.002.
- [43] A. Yousefi, A. Allahverdi, P. Hejazi, Accelerated biodegradation of cured cement paste by *Thiobacillus* species under simulation condition, *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 86 (2014) 317–326. doi:10.1016/j.ibiod.2013.10.008.
- [44] I. Martín Sánchez, *Diversidad Microbiana y Taxonomía, Efectos Del PH y Adapt. Mol.* (n.d.). http://www.diversidadmicrobiana.com/index.php?option=com_content&view=article&id=459&Itemid=531.
- [45] R. Chang, K.A. Goldsby, Ácidos y Bases, in: *Química*, 11th ed., McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S. A. DE C.V., China, 2013: pp. 668–721.
- [46] LUMEN, Microbiology, Eff. PH Microb. Growth. (n.d.). <https://courses.lumenlearning.com/microbiology/chapter/the-effects-of-ph-on-microbial-growth/>.
- [47] S.P. Singh, P. Singh, Effect of temperature and light on the growth of algae species: A review, *Renew. Sustain. Energy Rev.* 50 (2015) 431–444. doi:10.1016/j.rser.2015.05.024.
- [48] L.C. Fernández-Linares, C. Guerrero Barajas, E. Durán Páramo, J.A. Badillo Corona, Assessment of *Chlorella vulgaris* and indigenous microalgae biomass with treated wastewater as growth culture medium, *Bioresour. Technol.* 244 (2017) 400–406. doi:10.1016/j.biortech.2017.07.141.
- [49] M. Lakshmikandan, A.G. Murugesan, *Chlorella vulgaris* MSU-AGM 14, a fresh water microalgal strain - growth and photobiological hydrogen production in acid hydrolysate of seaweed *Valoniopsis pachynema*, *Int. J. Hydrogen Energy.* 41 (2016) 13986–13992. doi:10.1016/j.ijhydene.2016.06.237.
- [50] C. Yan, L. Zhang, X. Luo, Z. Zheng, Effects of various LED light wavelengths and intensities on the performance of purifying synthetic domestic sewage by microalgae at different influent C/N ratios, *Ecol. Eng.* 51 (2013) 24–32. doi:10.1016/j.ecoleng.2012.12.051.
- [51] S. Benelhadj, A. Gharsallaoui, P. Degraeve, H. Attia, D. Ghorbel, Effect of pH on the functional properties of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* protein Benelhadj, S., Gharsallaoui, A., Degraeve, P., Attia, H., & Ghorbel, D. (2016). Effect of pH on the functional properties of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* protein i, *Food Chem.* 194 (2016) 1056–1063. doi:10.1016/j.foodchem.2015.08.133.
- [52] C.-Y. Chen, P.-C. Kao, C.H. Tan, P.L. Show, W.Y. Cheah, W.-L. Lee, T.C. Ling, J.-S. Chang, Using an innovative pH-stat CO₂ feeding strategy to enhance cell growth and C-phycocyanin production from *Spirulina platensis*, *Biochem. Eng. J.* 112 (2016) 78–85. doi:10.1016/j.bej.2016.04.009.
- [53] E.B. Sydney, W. Sturm, J.C. de Carvalho, V. Thomaz-Soccol, C. Larroche, A. Pandey, C.R. Soccol, Potential carbon dioxide fixation by industrially important microalgae, *Bioresour. Technol.* 101 (2010) 5892–5896. doi:10.1016/j.biortech.2010.02.088.
- [54] M. Chabannes, E. Garcia-diaz, L. Clerc, J. Bénétzet, Effect of curing conditions and Ca (OH)₂-treated aggregates on mechanical properties of rice husk and hemp concretes using a lime-based binder, *Constr. Build. Mater.* 102 (2016) 821–833. doi:10.1016/j.conbuildmat.2015.10.206.
- [55] P.-C. Aitcin, Binders and concrete of yesterday, in: *Bind. Durable Sustain. Concr.*, Taylor & Francis, (2008): pp. 16–43.
- [56] M.A. Oliveira, M. Azenha, P.B. Lourenço, A. Meneghini, E.T. Guimarães, F. Castro, D. Soares, Experimental analysis of the carbonation and humidity diffusion processes in aerial lime mortar, *Constr. Build. Mater.* 148 (2017) 38–48. doi:10.1016/j.conbuildmat.2017.04.120.
- [57] B.A. Silva, A.P. Ferreira Pinto, A. Gomes, Influence of natural hydraulic lime content on the properties of aerial lime-based mortars, *Constr. Build. Mater.* 72 (2014) 208–218. doi:10.1016/j.conbuildmat.2014.09.010.
- [58] B. Schug, K. Mandel, G. Schottner, A. Shmeliov, V. Nicolosi, R. Baese, B. Pietschmann, M. Biebl, G. Sextl, A mechanism to explain the creep behavior of gypsum plaster, *Cem. Concr. Res.* 98 (2017) 122–129. doi:10.1016/j.cemconres.2017.04.012.

- [59] M.D. Butakova, S.P. Gorbunov, Study of the Influence of Complex Additives on Properties of the Gypsum-Cement-Puzzolan Binder and Concretes on its Basis, *Procedia Eng.* 150 (2016) 1461–1467. doi:10.1016/j.proeng.2016.07.082.
- [60] R. Siddique, Utilization of silica fume in concrete: Review of hardened properties, *Resour. Conserv. Recycl.* 55 (2011) 923–932. doi:10.1016/j.resconrec.2011.06.012.
- [61] M.C.G. Juenger, R. Siddique, Understanding the role of supplementary cementitious materials in concrete, *Cem. Concr. Res.* 78 (2015) 71–80. doi:10.1016/j.cemconres.2015.03.018.
- [62] M.I. Khan, R. Siddique, Utilization of silica fume in concrete: Review of durability properties, *Resour. Conserv. Recycl.* 57 (2011) 30–35. doi:10.1016/j.resconrec.2011.09.016.
- [63] Y. Senhadji, G. Escadeillas, M. Mouli, H. Khelafi, Benosman, Influence of natural pozzolan, silica fume and limestone fine on strength, acid resistance and microstructure of mortar, *Powder Technol.* 254 (2014) 314–323. doi:10.1016/j.powtec.2014.01.046.
- [64] Antoni, L. Chandra, D. Hardjito, The impact of using fly ash, silica fume and calcium carbonate on the workability and compressive strength of mortar, *Procedia Eng.* 125 (2015) 773–779. doi:10.1016/j.proeng.2015.11.132.
- [65] T. Kim, J.M. Davis, M.T. Ley, S. Kang, P. Amrollahi, Fly ash particle characterization for predicting concrete compressive strength, *Constr. Build. Mater.* 165 (2018) 560–571. doi:10.1016/j.conbuildmat.2018.01.059.
- [66] G. Xu, X. Shi, Resources , Conservation & Recycling Characteristics and applications of fly ash as a sustainable construction material: A state-of-the-art review, *Resour. Conserv. Recycl.* 136 (2018) 95–109. doi:10.1016/j.resconrec.2018.04.010.
- [67] G.L. Golewski, Improvement of fracture toughness of green concrete as a result of addition of coal fly ash. Characterization of fly ash microstructure, *Mater. Charact.* 134 (2017) 335–346. doi:10.1016/j.matchar.2017.11.008.
- [68] S.C. Pal, A. Mukherjee, S.R. Pathak, Investigation of hydraulic activity of ground granulated blast furnace slag in concrete, *Cem. Concr. Res.* 33 (2003) 1481–1486. doi:10.1016/S0008-8846(03)00062-0.
- [69] E. Özbay, M. Erdemir, H.İ. Durmuş, Utilization and efficiency of ground granulated blast furnace slag on concrete properties – A review, *Constr. Build. Mater.* 105 (2016) 423–434. doi:10.1016/j.conbuildmat.2015.12.153.
- [70] M. Codina, C. Cau-dit-Coumes, P. Le Bescop, J. Verdier, J.P. Ollivier, Design and characterization of low-heat and low-alkalinity cements, *Cem. Concr. Res.* 38 (2008) 437–448. doi:10.1016/j.cemconres.2007.12.002.
- [71] J.L. García Calvo, A. Hidalgo, C. Alonso, L. Fernández Luco, Development of low-pH cementitious materials for HLRW repositories. Resistance against ground waters aggression, *Cem. Concr. Res.* 40 (2010) 1290–1297. doi:10.1016/j.cemconres.2009.11.008.
- [72] Q. Pu, L. Jiang, J. Xu, H. Chu, Y. Xu, Y. Zhang, Evolution of pH and chemical composition of pore solution in carbonated concrete, *Constr. Build. Mater.* 28 (2012) 519–524. doi:10.1016/j.conbuildmat.2011.09.006.
- [73] L. Urbonas, V. Leno, D. Heinz, Effect of carbonation in supercritical CO₂ on the properties of hardened cement paste of different alkalinity, *Constr. Build. Mater.* 123 (2016) 704–711. doi:10.1016/j.conbuildmat.2016.07.040.
- [74] D. Zhang, J. Zhao, D. Wang, C. Xu, M. Zhai, X. Ma, Comparative study on the properties of three hydraulic lime mortar systems: Natural hydraulic lime mortar, cement-aerial lime-based mortar and slag-aerial lime-based mortar, *Constr. Build. Mater.* 186 (2018) 42–52. doi:10.1016/j.conbuildmat.2018.07.053.
- [75] P.F.G. Banfill, E.M. Szadurski, A.M. Forster, Deterioration of natural hydraulic lime mortars, II: Effects of chemically accelerated leaching on physical and mechanical properties of carbonated materials, *Constr. Build. Mater.* 111 (2016) 182–190. doi:10.1016/j.conbuildmat.2016.02.055.
- [76] T. Martinez, A. Bertron, G. Escadeillas, E. Ringot, Algal growth inhibition on cement mortar : Efficiency of water repellent and photocatalytic treatments under UV / VIS illumination, 89 (2014) 115–125.
- [77] E. Standard, EUROPEAN STANDARD Products and systems for the protection and repair of concrete carbonation, (2004).
- [78] F. Tittarelli, C. Giosuè, A. Mobili, M.L. Ruello, Influence of binders and aggregates on VOCs

- adsorption and moisture buffering activity of mortars for indoor applications, *Cem. Concr. Compos.* 57 (2015) 75–83. doi:10.1016/j.cemconcomp.2014.11.013.
- [79] A. Arizzi, G. Cultrone, Aerial lime-based mortars blended with a pozzolanic additive and different admixtures: A mineralogical, textural and physical-mechanical study, *Constr. Build. Mater.* 31 (2012) 135–143. doi:10.1016/j.conbuildmat.2011.12.069.
- [80] J. Grilo, P. Faria, R. Veiga, A. Santos Silva, V. Silva, A. Velosa, New natural hydraulic lime mortars - Physical and microstructural properties in different curing conditions, *Constr. Build. Mater.* 54 (2014) 378–384. doi:10.1016/j.conbuildmat.2013.12.078.
- [81] J.S. Pozo-Antonio, Evolution of mechanical properties and drying shrinkage in lime-based and lime cement-based mortars with pure limestone aggregate, *Constr. Build. Mater.* 77 (2015) 472–478. doi:10.1016/j.conbuildmat.2014.12.115.
- [82] B. Dong, Q. Qiu, Z. Gu, J. Xiang, C. Huang, Y. Fang, F. Xing, W. Liu, Characterization of carbonation behavior of fly ash blended cement materials by the electrochemical impedance spectroscopy method, *Cem. Concr. Compos.* 65 (2016) 118–127. doi:10.1016/j.cemconcomp.2015.10.006.
- [83] N. Singh, S.P. Singh, Carbonation resistance and microstructural analysis of Low and High Volume Fly Ash Self Compacting Concrete containing Recycled Concrete Aggregates, *Constr. Build. Mater.* 127 (2016) 828–842. doi:10.1016/j.conbuildmat.2016.10.067.
- [84] H.A. Alaka, L.O. Oyedele, High volume fly ash concrete: The practical impact of using superabundant dose of high range water reducer, *J. Build. Eng.* 8 (2016) 1–10. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.job.2016.09.008.
- [85] R.X. Magallanes-Rivera, C.A. Juárez-Alvarado, P. Valdez, J.M. Mendoza-Rangel, Modified gypsum compounds: An ecological-economical choice to improve traditional plasters, *Constr. Build. Mater.* 37 (2012) 591–596. doi:10.1016/j.conbuildmat.2012.07.054.
- [86] G. Yakovlev, I. Polyanskikh, G. Fedorova, A. Gordina, A. Buryanov, Anhydrite and gypsum compositions modified with ultrafine man-made admixtures, *Procedia Eng.* 108 (2015) 13–21. doi:10.1016/j.proeng.2015.06.195.
- [87] M.A. Guerra-Cossío, J.R. González-López, R.X. Magallanes-Rivera, A.A. Zaldívar-Cadena, M.Z. Figueroa-Torres, Anhydrite, blast-furnace slag and silica fume composites: properties and reaction products, *Adv. Cem. Res.* (2018) 1–8. doi:10.1680/jadcr.17.00216.
- [88] M.Á. Guerra Cossío, Efecto de la temperatura de calcinación sobre la reactividad de cementantes hidráulicos a base de yeso de desecho, *Universidad Autónoma de Nuevo León*, (2016).
- [89] G. Azimi, V.G. Papangelakis, Mechanism and kinetics of gypsum-anhydrite transformation in aqueous electrolyte solutions, *Hydrometallurgy.* 108 (2011) 122–129. doi:10.1016/j.hydromet.2011.03.007.
- [90] O.A. Martínez-Aguilar, P. Castro-Borges, J.I. Escalante-García, Hydraulic binders of Fluorgypsum-Portland cement and blast furnace slag, stability and mechanical properties, *Constr. Build. Mater.* 24 (2010) 631–639. doi:10.1016/j.conbuildmat.2009.11.006.
- [91] M. Singh, M. Garg, Activation of gypsum anhydrite-slag mixtures, *Cem. Concr. Res.* 25 (1995) 332–338. doi:10.1016/0008-8846(95)00018-6.
- [92] R.X. Magallanes-Rivera, J.I. Escalante-García, Hemihydrate or waste anhydrite in composite binders with blast-furnace slag: Hydration products, microstructures and dimensional stability, *Constr. Build. Mater.* 71 (2014) 317–326. doi:10.1016/j.conbuildmat.2014.08.054.
- [93] P.-C. Aitcin, Cementitious materials other than Portland cement, in: *Bind. Durable Sustain. Concr.*, Taylor & Francis, (2008): pp. 273–313.
- [94] M. Zajac, A. Rossberg, G. Le Saout, B. Lothenbach, Influence of limestone and anhydrite on the hydration of Portland cements, *Cem. Concr. Compos.* 46 (2014) 99–108. doi:10.1016/j.cemconcomp.2013.11.007.
- [95] A. Behnood, K. Van Tittelboom, N. De Belie, Methods for measuring pH in concrete: A review, *Constr. Build. Mater.* 105 (2016) 176–188. doi:10.1016/j.conbuildmat.2015.12.032.
- [96] A. Leemann, B. Lothenbach, C. Thalmann, Influence of superplasticizers on pore solution composition and on expansion of concrete due to alkali-silica reaction, *Constr. Build. Mater.* 25 (2011) 344–350. doi:10.1016/j.conbuildmat.2010.06.019.
- [97] S. Manso, A. Aguado, A review of sample preparation and its influence on pH determination in concrete samples, *Mater. Construcción.* 67 (2017) 1–10. doi:10.3989/mc.2017.08515.

- [98] Y.S. Ji, M. Wu, B. Ding, F. Liu, F. Gao, The experimental investigation of width of semi-carbonation zone in carbonated concrete, *Constr. Build. Mater.* 65 (2014) 67–75. doi:10.1016/j.conbuildmat.2014.04.095.
- [99] T. Verdier, M. Coutand, A. Bertron, C. Roques, A review of indoor microbial growth across building materials and sampling and analysis methods, *Build. Environ.* 80 (2014) 136–149. doi:10.1016/j.buildenv.2014.05.030.
- [100] B.B. Das, B. Kondraivendhan, Implication of pore size distribution parameters on compressive strength, permeability and hydraulic diffusivity of concrete, *Constr. Build. Mater.* 28 (2012) 382–386. doi:10.1016/j.conbuildmat.2011.08.055.
- [101] S. Ahmad, a Azad, An exploratory study on correlating the permeability of concrete with its porosity and tortuosity, *Adv. Cem. Res.* 25 (2013) 288–294. doi:10.1680/adcr.12.00052.
- [102] S. Maria, Methods for porosity measurement in lime-based mortars, *Constr. Build. Mater.* 24 (2010) 2572–2578. doi:10.1016/j.conbuildmat.2010.05.019.
- [103] B. Kondraivendhan, B. Bhattacharjee, Strength and w/c ratio relationship of cement based materials through pore features, *Mater. Charact.* 122 (2016) 124–129. doi:10.1016/j.matchar.2016.10.036.
- [104] R. Cherif, A.A. Hamami, J. Meusnier, P. Ferrão, J. Fournier, M. Crépeau, L.R. Cedex, Study of the pore solution and the microstructure of mineral additions blended cement pastes, *Energy Procedia.* 139 (2017) 584–589. doi:10.1016/j.egypro.2017.11.257.
- [105] & B.B. Kondraivendhan B, Pore size distribution modification of OPC paste through inclusion of fly ash and sand, *Mag. Concr. Res.* 65 (2013) 663–684. doi:10.1680/macrc.12.00182.
- [106] O. Mass, S. Mass, A. Immersion, S. Mass, A. Boiling, I.A. Mass, Standard Test Method for Density , Absorption , and Voids in Hardened Concrete 1, (2006) 6–8. doi:10.1520/C0642-06.1.
- [107] T.H. Tran, A. Govin, R. Guyonnet, P. Grosseau, C. Lors, D. Damidot, O. Deves, B. Ruot, Influence of the intrinsic characteristics of mortars on their biofouling by *Klebsormidium flaccidum*, *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 86 (2014) 334–342. doi:10.1016/j.ibiod.2013.10.005.
- [108] M.L. Coutinho, A.Z. Miller, M.A. Rogerio-Candelera, J. Mirão, L. Cerqueira Alves, J.P. Veiga, H. Águas, S. Pereira, A. Lyubchik, M.F. Macedo, An integrated approach for assessing the bioreceptivity of glazed tiles to phototrophic microorganisms, *Biofouling.* 32 (2016) 243–259. doi:10.1080/08927014.2015.1135242.
- [109] D. Bilanovic, A. Andargatchew, T. Kroeger, G. Shelef, Freshwater and marine microalgae sequestering of CO₂ at different C and N concentrations - Response surface methodology analysis, *Energy Convers. Manag.* 50 (2009) 262–267. doi:10.1016/j.enconman.2008.09.024.
- [110] W. Wang, F. Han, Y. Li, Y. Wu, J. Wang, R. Pan, G. Shen, Medium screening and optimization for photoautotrophic culture of *Chlorella pyrenoidosa* with high lipid productivity indoors and outdoors, *Bioresour. Technol.* 170 (2014) 395–403. doi:10.1016/j.biortech.2014.08.030.
- [111] I. Di Termini, A. Prassone, C. Cattaneo, M. Rovatti, On the nitrogen and phosphorus removal in algal photobioreactors, *Ecol. Eng.* 37 (2011) 976–980. doi:10.1016/j.ecoleng.2011.01.006.
- [112] J. Pruvost, G. Van Vooren, B. Le Gouic, A. Couzinet-Mossion, J. Legrand, Systematic investigation of biomass and lipid productivity by microalgae in photobioreactors for biodiesel application, *Bioresour. Technol.* 102 (2011) 150–158. doi:10.1016/j.biortech.2010.06.153.
- [113] C. Ramírez-López, I. Chairez, L. Fernández-Linares, A novel culture medium designed for the simultaneous enhancement of biomass and lipid production by *Chlorella vulgaris* UTEX 26, *Bioresour. Technol.* 212 (2016) 207–216. doi:10.1016/j.biortech.2016.04.051.
- [114] C. Chen, P. Kao, C. Tsai, D. Lee, J. Chang, Engineering strategies for simultaneous enhancement of C-phycocyanin production and CO₂ fixation with *Spirulina platensis*, *Bioresour. Technol.* 145 (2013) 307–312. doi:10.1016/j.biortech.2013.01.054.
- [115] S. Takaç, B. Erdem, A.E. Ünlü, Impact of Inoculation Strategy on the Progress of *Candida rugosa* Cultivation, *Artif. Cells, Blood Substitutes, Biotechnol.* 37 (2009) 130–137. doi:10.1080/10731190902913783.
- [116] C. Lee, M. Seo, J. Yong, S. Hee, D. Geun, S. Woon, Effects of an auxin-producing symbiotic bacterium on cell growth of the microalga *Haematococcus pluvialis* : Elevation of cell density and prolongation of exponential stage, 41 (2019).
- [117] D. Xj-, L. Xia, R. Huang, Y. Li, S. Song, The effect of growth phase on the surface properties of three oleaginous microalgae, (2017).

- [118] N. Mezzomo, A.G. Saggiorato, R. Siebert, P.O. Tatsch, M.C. Lago, M. Hemkemeier, J. Alberto, V. Costa, T.E. Bertolin, L.M. Colla, Cultivation of microalgae *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*) from biological treatment of swine wastewater, 30 (2010) 173–178.
- [119] K. Price, I.H. Farag, Resources Conservation in Microalgae Biodiesel Production, (2014).
- [120] S. Nor, A. Azaman, N. Nagao, F.M. Yusoff, S.W. Tan, A comparison of the morphological and biochemical characteristics of *Chlorella sorokiniana* and *Chlorella zofingiensis* cultured under photoautotrophic and mixotrophic conditions, (2017). doi:10.7717/peerj.3473.
- [121] Ż. Beata, M. Anioł, J. Lipok, Modulation of the growth and metabolic response of cyanobacteria by the multifaceted activity of naringenin, (2017) 1–14.
- [122] ASTM, Standard Specification for Portland Cement, i (2009) 1–10. doi:10.1520/C0150.
- [123] NORCHEM, SILICA FUME -TECHNICAL DATA SHEET, (2002).
- [124] ASTM, Standard Specification for Silica Fume Used in Cementitious Mixtures, Astm C1240. (2005) 1–7. doi:10.1520/C1240-14.2.
- [125] Calidra, Ficha Técnica, 2003.
- [126] A. Durán-Herrera, J.M. Mendoza-Rangel, E.U. De-Los-Santos, F. Vázquez, P. Valdez, D.P. Bentz, Accelerated and natural carbonation of concretes with internal curing and shrinkage/viscosity modifiers, Mater. Struct. 48 (2014) 1207–1214. doi:10.1617/s11527-013-0226-y.
- [127] S. Specification, Standard Specification for Coal Fly Ash and Raw or Calcined Natural Pozzolan for Use, (n.d.) 1–5. doi:10.1520/C0618.
- [128] S.T. Methods, Standard Test Methods for Physical Testing of Gypsum , Gypsum Plasters and Gypsum, 99 (2009) 1–8. doi:10.1520/C0472-99R09.2.
- [129] Yesera Monterrey, Yeso Maximo, Monterrey, Nuevo León, México, 2011.
- [130] F. Puertas, Escorias de alto horno: composición y comportamiento hidráulico, Mater. Construcción. 43 (1993) 37–48. doi:10.3989/mc.1993.v43.i229.687.
- [131] Sika, ViscoCrete 7800, n.d.
- [132] ASTM, Organic Impurities in Fine Aggregates for Concrete 1, (2004) 1–2. doi:10.1520/C0040.
- [133] Instituto Andaluz de Ciencias de la Tierra, Instituto Andaluz de Ciencias de la Tierra, Fluoresc. RAYOS X. (n.d.). http://www.iact.ugr-csic.es/contenido_es/cientifico-tecs/fluorescencia.html (accessed October 3, 2018).
- [134] IPICYT, LINAN, Laboratorio Nacional de Investigaciones en Nanociencias y Nanotecnología, Espectroscopia Fluoresc. Rayos X(XRF). (2017) 1. http://www.linan-ipicyt.mx/Espectroscopia_de_fluorescencia.html (accessed October 3, 2018).
- [135] A.K. Chatterjee, X-Ray Diffraction, in: V.S. Ramachandra, J.J. Beaudoin (Eds.), Handb. Anal. Tech. Concr. Sci. Technol., William Andrew, New York, 2001: pp. 275–327.
- [136] W.D.J. Callister, The Structure of Crystalline Solids, in: Mater. Sci. Eng. An Introd., 7th ed., John Wiley & Sons, Inc., New York, (2007): pp. 38–79.
- [137] W.F. Smith, J. Hashemi, Solidificación e imperfecciones cristalinas, in: Fundam. La Cienc. e Ing. Los Mater., 4 Ta, McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S. A. DE C.V., D.F., (2006): pp. 124–173.
- [138] Quantachrome Instruments, Gas Pycnometers, Florida, 2018. http://www.quantachrome.com/pdf_brochures/07171_Gas_Pyc.pdf.
- [139] L.M. Ciganda, Electrodo para medir pH, Montevideo, (2004).
- [140] J. Brame, C. Griggs, Surface Area Analysis Using the Brunauer- Emmett-Teller (BET) Method Scientific Operating Procedure Series : SOP-C Environmental Laboratory, (2016).
- [141] Nanoscience Instruments, Optical Profilometry, (2018). <https://www.nanoscience.com/techniques/optical-profilometry/> (accessed October 8, 2018).
- [142] M. Cabinets, M. Rooms, B. Statements, D. Mass, Standard Test Method for Compressive Strength of Hydraulic Cement Mortars (Using 2-in . or [50-mm] Cube Specimens) 1, (n.d.) 1–9. doi:10.1520/C0109.
- [143] S. Rajendran, D. Centre, Growth measurement technique of microalgae, (2013) 1–3.
- [144] E.G. Fawaz, D.A. Salam, L. Kamareddine, Evaluation of copper toxicity using site specific algae and water chemistry: Field validation of laboratory bioassays, Ecotoxicol. Environ. Saf. 155 (2018) 59–65. doi:10.1016/j.ecoenv.2018.02.054.
- [145] Z. Yu, H. Pei, L. Jiang, Q. Hou, C. Nie, L. Zhang, Phytohormone addition coupled with nitrogen depletion almost tripled the lipid productivities in two algae, Bioresour. Technol. 247 (2018)

- 904–914. doi:10.1016/j.biortech.2017.09.192.
- [146] Fastest Oncology & Hematology Insight Engine, OncoHEMA Key, (2016). <https://oncohemakey.com/routine-and-point-of-care-testing-in-hematology-manual-and-semiautomated-methods/> (accessed October 21, 2018).
 - [147] University of the Basque Country, Neubauer improved cell counting chamber, (2018). http://insilico.ehu.eus/counting_chamber/neubauer_improved.php (accessed October 21, 2018).
 - [148] The University of Queensland, Spectrophotometry, (2017). <https://di.uq.edu.au/community-and-alumni/sparq-ed/sparq-ed-services/spectrophotometry>.
 - [149] J. McGowen, E.P. Knoshaug, L.M.L. Laurens, T.A. Dempster, P.T. Pienkos, E. Wolfrum, V.L. Harmon, The Algae Testbed Public-Private Partnership (ATP3) framework; establishment of a national network of testbed sites to support sustainable algae production, *Algal Res.* 25 (2017) 168–177. doi:10.1016/j.algal.2017.05.017.
 - [150] A.R. Wellburn, The Spectral Determination of Chlorophylls a and b, as well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different Resolution, *J. Plant Physiol.* 144 (1994) 307–313. doi:10.1016/S0176-1617(11)81192-2.
 - [151] B.W.L. Shoaf, W. Thomas, Improved extraction of chlorophyll a and b, *Water.* (1974) 1973–1975.
 - [152] M. Schagerl, G. Künzl, Chlorophyll a extraction from freshwater algae - A reevaluation, *Biologia (Bratisl.)*. 62 (2007) 270–275. doi:10.2478/s11756-007-0048-x.
 - [153] D. Simon, S. Helliwell, EXTRACTION AND QUANTIFICATION OF CHLOROPHYLL A FROM FRESHWATER GREEN ALGAE, 32 (1998) 2220–2223.
 - [154] I. Fernández-Silva, P. Sanmartín, B. Silva, A. Moldes, B. Prieto, Quantification of phototrophic biomass on rocks: Optimization of chlorophyll-a extraction by response surface methodology, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 38 (2011) 179–188. doi:10.1007/s10295-010-0843-1.
 - [155] Y. Peng, R.A. Lauten, K. Reknes, S. Jacobsen, Bleeding and sedimentation of cement paste measured by hydrostatic pressure and Turbiscan, *Cem. Concr. Compos.* 76 (2017) 25–38. doi:10.1016/j.cemconcomp.2016.11.013.
 - [156] E.A.B. Khalil, M. Anwar, Carbonation of ternary cementitious concrete systems containing fly ash and silica fume, *Water Sci.* 29 (2015) 1–9. doi:10.1016/j.wsj.2014.12.001.